



HAL
open science

Influence d'un régime riche en graisses sur un modèle de vieillissement " accéléré " : étude de la fonction et de la morphologie cardiaque, la fonction artérielle, le métabolisme et l'inflammation

Delphine Lambert

► To cite this version:

Delphine Lambert. Influence d'un régime riche en graisses sur un modèle de vieillissement " accéléré " : étude de la fonction et de la morphologie cardiaque, la fonction artérielle, le métabolisme et l'inflammation. Médecine humaine et pathologie. Université de Lorraine, 2016. Français. NNT : 2016LORR0266 . tel-01535886

HAL Id: tel-01535886

<https://theses.hal.science/tel-01535886>

Submitted on 9 Jun 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



Ecole Doctorale BioSE (Biologie-Santé-Environnement)

Thèse

Présentée et soutenue publiquement pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LORRAINE

Mention : « Sciences de la Vie et de la Santé »

par Delphine LAMBERT

Influence d'un régime riche en graisses sur un modèle de vieillissement « accéléré » : étude de la fonction et de la morphologie cardiaque, la fonction artérielle, le métabolisme et l'inflammation

Soutenue le 6 décembre 2016

Membres du jury :

Rapporteurs :	Mme Fati NOURHASHEMI	PU-PH, UFR Pourpan, Toulouse
	Mme Agathe RAYNAUD SIMON	PU-PH, Hôpital Bichat APHP, Paris
Examineurs :	M. David MONTAIGNE	PU-PH, CHRU, Lille
	Mme Véronique REGNAULT	Directrice de recherche, UMR_S 1116, Nancy Université
	M. Athanase BENETOS	PU-PH, UMR_S 1116, Nancy Université, directeur de thèse
	Mme Laure JOLY	PU-PH, UMR_S 1116, Nancy Université, co-directrice de thèse

UMR_S 1116, « Défaillance cardiovasculaire aigue et chronique »,

Faculté de Médecine de Nancy, Université de Lorraine

REMERCIEMENTS

Je tiens, dans un premier temps, à remercier le **Dr Patrick Lacolley**, directeur de l'unité UMR_S 1116, de m'avoir accueillie au sein de son laboratoire. Je le remercie pour tous ses conseils scientifiques qui m'ont permis d'avancer dans mon projet.

Je tiens tout particulièrement à remercier mon encadrant, le **Professeur Athanase Bénétos**, qui m'a donné l'opportunité de réaliser ce travail de thèse. Je le remercie pour toutes ses qualités scientifiques, ses conseils avisés, ses remarques constructives et pour sa confiance. Merci de m'avoir transmis vos connaissances sur le sujet. Pour toutes ces raisons, je vous adresse toute ma gratitude.

Je remercie également le **Professeur Laure Joly**, ma co-directrice de thèse, pour son soutien, son aide et sa grande disponibilité. J'ai beaucoup appris de nos diverses discussions, qu'elles soient scientifiques ou non. Merci de m'avoir guidé dans mon travail et de m'avoir aidé à trouver des solutions pour avancer. J'ai également apprécié vos qualités humaines de compréhension, d'écoute et de sympathie.

Je remercie le **Professeur Fati Nourhashemi** et le **Professeur Agathe Raynaud Simon** pour l'honneur d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse et d'être rapporteurs de mon travail. Veuillez trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Je remercie le **Professeur David Montaigne**, de m'avoir fait l'honneur de participer à ce jury en tant qu'examineur.

Je remercie de **Docteur Véronique Regnault** pour accepter de juger mon travail de thèse en faisant partie de mon jury. Merci pour sa gentillesse et pour les différents conseils sur le plan scientifique qu'elle a pu m'apporter.

J'adresse également mes remerciements à l'ensemble de l'équipe de la plateforme Nancyclotep. Merci au **Professeur Pierre-Yves Marie** pour ses conseils scientifiques et son implication dans le projet. Merci au **Docteur Fatiha Maskali** pour sa réflexion, son aide pour l'exploitation des résultats et les précieux conseils qu'elle a pu m'apporter. Merci au **Docteur Sylvain Poussier** pour son aide dans les expérimentations d'imagerie à résonance magnétique et l'analyse des images. Merci à **Alexandra Clément** de m'avoir formé dans la technique de tomographie à émissions de positons.

Je remercie le **Docteur Huguette Louis** et **Cécile Lakomy**. Merci de m'avoir acceptée dans leur bureau. Votre présence au quotidien m'a énormément apporté tant sur le plan scientifique que personnel. Merci pour votre bonne humeur et votre humour qui ont pu égayer mes journées parfois longues. Merci d'avoir été là dans les moments où ça n'allait pas. Vous avez été des collègues de bureau exceptionnelles. Je ne vous oublierai pas « les girl's du bureau ».

Merci du fond du cœur à tous mes autres collègues avec qui j'ai passé des moments inoubliables. Merci au **Docteur Nathalie Mercier** pour son aide technique et sa bonne humeur. Merci au **Professeur Simon Thorton** pour son aide sur l'expérimentation animale et sur l'anglais. Merci au **Docteur Zhor Ramdane-Cherif** pour ses conseils et son aide expérimentale. Merci à **Véronique Laplace** de s'être occupée de mes petites souris durant toute ma thèse. Merci à **Audrey Isch** pour son aide sur les questions administratives et sa bienveillance. Merci à **Mélanie Folio** et **Margaux Schmitt** pour leur joie de vivre. Je remercie **Simon Toupance** pour les conseils scientifiques qu'il a pu m'apporter et les longues discussions que l'on a pu avoir ensemble. Bon courage à **John Pirault**, **George Lindesay** et **Morel Worou** pour vos années à venir au sein du laboratoire. Merci également à **Céline Leroy** pour sa bonne humeur contagieuse.

Merci aux doctorants qui m'ont accompagné durant ces 3 années de thèse. Merci à **Amel Mohamadi** pour sa bonne humeur, sa gentillesse, son amitié, son soutien et ses blagues dont certaines nous ont donné de beaux fous rires. Je remercie **Ekaterina Belozertseva** pour les discussions que l'on a pu avoir. Merci à **Narimane Al Kattany** pour les moments que l'on a pu passer ensemble au laboratoire et durant les congrès. Je remercie **Chaojie Wei** pour sa gentillesse et son sourire au quotidien. Je remercie **Camille Rouillon** et **Mélusine Didelot** pour leur sympathie. Vous avez toujours su trouver les mots pour me faire sourire ou me remonter le moral. Votre voie est toute tracée à vous de lui donner la meilleure des fins.

Merci à tous d'avoir été là pendant ces trois ans.

Je remercie les personnes qui ne sont plus présentes au sein du laboratoire mais pour qui je garde une place précieuse au sein de mon cœur. Merci à **Sophie Schwebel** pour ta présence, pour ton sourire. Je n'oublierai jamais les moments passés à tes côtés, nos soirées jeu à la Feinte de l'ours, nos sorties piscines. Merci à **Elodie Rousseau** qui a toujours su

m'épauler dans les bons comme les mauvais moments. Merci à elle de m'avoir montré les différentes techniques expérimentales. Merci également pour les moments que l'on a pu passer en dehors du laboratoire à faire la cuisine, discuter, rigoler. Bref merci d'avoir été là et d'être encore là malgré la distance. Je remercie également **Marc-Damien Lorenzo Rodriguez**. Même si tu m'as souvent envoyé des blagues plus ou moins douteuses (Ille et Vilaine), je retiendrai de toi ta bonne humeur, ta sympathie. Merci d'avoir été présent et bonne chance pour la suite.

Je tiens également à remercier les différentes personnes que j'ai pu croiser au cours de mon cursus universitaire et qui m'ont toujours soutenue. Merci à **Julie Peiffer** et à **Guillemette Crépeaux** de m'avoir fait découvrir les choix du laboratoire, de m'avoir apporté leurs compétences techniques et connaissances durant mon stage de Master. Guillemette j'espère un jour suivre le même parcours brillant que toi. Merci à **Xavier Lecomte**, « Le Breton », pour les discussions et moments que l'on a pu passer ensemble. Même si tu es de l'autre côté de la France je ne t'oublie pas. Merci à **Mélanie Thomas** qui a toujours su me remonter le moral dans les moments de doutes. Merci pour ton amitié et tes conseils. Je remercie également **Jessica Fruminet** qui a toujours été présente pour moi. Je n'oublierais jamais tous les instants que l'on a pu passer ensemble à discuter, critiquer les gens dans le tram et bien d'autres moments.

Merci à mon amie de toujours **Laura**. Merci pour les nombreuses soirées que l'on a passé ensemble quand j'étais de retour dans les Vosges et qui m'ont permis de me changer les idées. Merci d'être là depuis toutes ses années, tu es une amie en or.

Je tiens à remercier ma famille qui a toujours été présente. Merci à mes parents pour leur amour, leur soutien et leurs conseils qui m'ont fait arriver là où je suis actuellement. Une pensée pour mon frère jumeau sur qui j'ai toujours pu compter. Merci également à ma belle-famille de m'avoir toujours encouragé dans mon travail et d'avoir toujours été bienveillant avec moi.

Enfin merci à **Vincent** pour son amour. Merci de m'avoir toujours encouragé et soutenu pour arriver au bout de ce travail.

« Pour l'instant le monde humain appartient à ceux qui se demandent pourquoi. Mais l'avenir appartient forcément à ceux qui se demandent comment »

Bernard Werber

« Le bonheur n'est pas quelque chose que tu planifies pour le futur, c'est quelque chose que tu conçois pour le présent »

Jim Rohn

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE	13
ETAT DES CONNAISSANCES.....	17
I. Syndrome métabolique et obésité	19
a) Définition du syndrome métabolique chez l'homme	19
b) Définition de l'obésité et prévalence	20
c) Modèles animaux de syndrome métabolique et d'obésité	21
d) Effets cardiovasculaires	23
e) Implication de l'inflammation	28
f) Quantification de la graisse par tomographie par émission de positons couplée au scanner.....	33
g) Quantification de la graisse par imagerie par résonance magnétique nucléaire ..	39
h) Syndrome métabolique, obésité et vieillissement	42
II. Vieillessement cardiovasculaire	45
a) Effet du vieillissement sur la structure et la fonction cardiaque	45
b) Effet du vieillissement sur la structure de la paroi artérielle : la rigidité artérielle ..	47
c) Vieillessement et inflammation.....	52
d) Tomographie par émission de positons cardiaque	54
e) Molécules impliquées dans la fibrose cardiaque et le vieillissement.....	56
TRAVAUX.....	59
I. HYPOTHESES ET OBJECTIFS DE TRAVAIL.....	61
II. MATERIEL ET METHODES	63
a) Animaux et régimes.....	63
b) Mesure de la pression artérielle chez l'animal éveillé.....	63
c) Prélèvements sanguins et test biochimiques.....	64
d) Test de tolérance au glucose	65
e) Echocardiographie	65
f) Imagerie par résonance magnétique	67
g) Tomographie par émission de positons	69
h) Prélèvements tissulaires	70
i) PCR	70
j) Analyse statistique	71
III. RESULTATS	73
a) Résistance au régime riche en graisses	73
b) Paramètres métaboliques	74

c) Effets du régime est du vieillissement sur les paramètres hémodynamiques et cardiovasculaire	78
d) Evaluation du niveau de graisse et du volume de tissu adipeux brun par imagerie par résonance magnétique	81
e) Evolution du métabolisme du glucose au niveau de la graisse blanche et de la graisse brune.....	83
f) Evolution du métabolisme du glucose au niveau du cœur.....	85
g) Evaluation des paramètres fonctionnels cardiaques par tomographie par émission de positons	85
h) Altération de l'expression des gènes au niveau cardiaque	89
DISCUSSION	94
CONCLUSIONS GENERALES ET PERSPECTIVES	104
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	110

INDEX DES FIGURES

Figure 1 : Schéma du métabolisme du FDG dans une cellule.	34
Figure 2 : Régulation transcriptionnelle du développement et de l'activation des adipocytes bruns.	35
Figure 3 : Tissus adipeux suite à l'utilisation de la technique IDEAL.	41
Figure 4 : Représentation des différentes composantes d'une artère.	47
Figure 5 : Mesure de la VOP carotido-fémorale en utilisant la méthode « foot to foot ».	50
Figure 6 : Représentation de stroke change (ΔA) in lumen cross-sectional area.	51
Figure 7 : Schéma de la technique « tail-cuff » pour la mesure de la pression artérielle.	64
Figure 8 : Exemple de vue parasternale obtenue en mode M pour la mesure des paramètres morphologiques du ventricule gauche.	66
Figure 9 : Exemple de vue 4 chambres obtenues en mode B et image de Doppler pulsé pour la détermination des paramètres de fonction diastolique.	67
Figure 10 : Exemples de spectres obtenus par résonance magnétique chez des souris SD et HFD après 12 mois de régime.	68
Figure 11 : Exemples de coupes transversales obtenues par imagerie par résonance magnétique chez des souris SD et HFD après 12 mois de régime.	68
Figure 12 : Emplacements des ROIs (« region of interest ») sur une image du milieu du myocarde en fin de diastole en vue petit axe.	70
Figure 13 : Evolution du poids durant la durée de l'étude.	74
Figure 14 : Test de tolérance au glucose.	75
Figure 15 : Effets d'un régime riche en graisse ou contrôle et du vieillissement sur la fréquence cardiaque et la pression artérielle systolique.	78
Figure 16 : Corrélation entre les taux de leptine plasmatique et l'épaisseur du septum interventriculaire chez les souris HFD après 12 mois de régime.	81
Figure 17 : Effets d'un régime riche en graisses ou contrôle et du vieillissement sur la graisse évaluée par imagerie par résonance magnétique.	82
Figure 18 : Effets d'un régime riche en graisses ou contrôle et du vieillissement sur le volume de tissu adipeux brun évalué par imagerie par résonance magnétique.	83
Figure 19 : Effets d'un régime riche en graisse ou contrôle et du vieillissement sur le métabolisme du glucose au niveau du tissu adipeux blanc et du tissu adipeux brun évaluée par tomographie par émission de positons.	84
Figure 20 : Effets d'un régime riche en graisse ou contrôle et du vieillissement sur le métabolisme du glucose au niveau du cœur évalué par tomographie par émission de positons.	85
Figure 21 : Exemple de résultats TEP chez une souris HFD après 6 mois de régime.	86
Figure 22 : Effets d'un régime riche en graisses ou contrôle et du vieillissement sur les paramètres cardiaques évalués par TEP.	87
Figure 23 : Corrélation entre le volume en fin de systole mesuré par tomographie par émission de positons et par échocardiographie dans l'ensemble de la population après 12 mois.	88

Figure 24 : Corrélation entre les volumes en fin de systole et en fin diastole mesurés par tomographie par émission de positons et par échocardiographie chez les souris HFD après 12 mois de régime.	89
Figure 25 : Effets d'un régime riche en graisses ou contrôle et du vieillissement sur l'expression de gènes inflammatoires au niveau cardiaque.	90
Figure 26 : Effets d'un régime riche en graisses ou contrôle et du vieillissement sur l'expression de gènes impliqués dans la fibrose au niveau cardiaque.....	91
Figure 27 : Effets d'un régime riche en graisses ou contrôle et du vieillissement sur l'expression du gène GDF11 au niveau cardiaque.	92

INDEX DES TABLEAUX

Tableau 1 : Effets d'un régime riche en graisses ou contrôle et du vieillissement sur les paramètres métaboliques.	77
Tableau 2 : Effets d'un régime riche en graisses ou contrôle et du vieillissement sur les paramètres écho cardiographiques.....	80

LISTE DES ABREVIATIONS

¹⁸ F-FDG	2-deoxy-2-18F-fluoro-D-glucose
ADN	Acide désoxyribonucléique
ANOVA	Analyse de variance
ARN	Acide ribonucléique
CAS	Carotid arterial strain
CRP	C-reactive protein : protéine C-réactive
DT	Deceleration time : temps de décélération
FC	Fréquence cardiaque
GDF11	Growth differentiation factor 11
GLUTs	Transporteurs du glucose
HDL	High density lipoprotein
HFD	High fat diet : régime riche en graisses
HPRT	Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase
IL-x	Interleukine X
IMC	Indice de masse corporelle
IRM	Imagerie par résonance magnétique
IVRT	Isovolumic relaxation time : temps de relaxation isovolumétrique
IVS	Interventricular septum : septum interventriculaire
KO	Knock-out
LDL	Low density lipoprotein
LVID	Left ventricular internal diameter : diamètre interne du ventricule gauche
LVPW	Left ventricular posterior wall : paroi postérieure du ventricule gauche
MCP-1	Monocyte Chemoattractant Protein-1
MMP	Métalloprotéinases matricielles
NFκB	Nuclear factor κB
Nppb	Natriuretic peptide type B
PAS	Pression artérielle systolique
PCR	Polymerase chain reaction : réaction en chaîne par polymérase
SUV	Standard uptake value
TAB	Tissu adipeux brun

TEP	Tomographie par émission de positons
TG	Triglycérides
TGF β	Tumor growth factor β
UCP-1	Uncoupling protein 1
VG	Ventricule gauche
VOP	Vitesse d'onde de pouls
ΔA	Stroke change in lumen area

INTRODUCTION GENERALE

Ces dernières années, la prévalence du surpoids et de l'obésité n'ont cessé d'augmenter (Stevens et al., 2012; Ng et al., 2014). L'obésité va être associée à une mortalité toutes causes confondues plus élevée (Flegal et al., 2013), une augmentation du risque de mortalité cardiovasculaire (Calle et al., 1999) et à une augmentation de l'incidence de maladies métaboliques à la fois chez les humains et les animaux (Baur et al., 2006; Muller et al., 2013; Lee et al., 2015; Guasch-Ferre et al., 2015).

Les complications cardiovasculaires liées à l'obésité et le vieillissement ont des points communs. On retrouve l'hypertension, l'hypertrophie ventriculaire gauche, les dysfonctions diastolique et systolique (Lavie et al., 2009; Strait & Lakatta, 2012; Cuspidi et al., 2014; Lavie et al., 2016). Ces observations sont retrouvées quand l'obésité est associée à des troubles métaboliques et à une hypertension. Certains auteurs ont émis l'idée qu'une obésité isolée ne présentait pas d'effets délétères (Lavie et al., 2009, 2016). En 2011, Niemann et ses collaborateurs ont montré que l'obésité, chez des sujets jeunes, entraîne un vieillissement cardiaque prématuré et augmente les complications cardiaques telles que l'insuffisance cardiaque. (Niemann et al., 2011). Ainsi, il semble que l'obésité associée au vieillissement puisse accélérer le processus du vieillissement global.

Dans ce contexte, nous souhaitons comprendre les mécanismes sous-jacents du vieillissement cardiaque accéléré et trouver des facteurs associés à l'obésité et au vieillissement sur lesquels il serait possible de jouer afin de contrer les effets délétères liés à ces deux observations.

La première partie de ce travail présentera l'état des connaissances actuelles des données bibliographiques sur le syndrome métabolique et l'obésité ainsi que le vieillissement. Les différents modèles animaux de syndrome métabolique et d'obésité disponibles y seront énumérés ainsi que les effets cardiovasculaires associés à ces deux pathologies ainsi que l'implication de l'inflammation systémique. Les technologies de tomographie par émission de positons et d'imagerie par résonance magnétique, deux techniques permettant d'étudier la structure et la fonction du tissu adipeux, y seront également détaillées. Nous exposerons ensuite les effets du vieillissement sur la structure et la fonction cardiaque mais également sur la structure de la paroi artérielle en introduisant la notion de rigidité artérielle. Enfin nous ferons un point sur les molécules impliquées dans la fibrose cardiaque et le vieillissement.

Dans une seconde partie, j'exposerai l'objectif de ce travail qui est de tester l'hypothèse qu'un régime riche en graisses, poursuivi sur une longue durée, peut altérer le métabolisme et accélérer le vieillissement du cœur. Les méthodes utilisées au cours de cette thèse seront également présentées. Les résultats de notre étude sur notre modèle animal, des souris C57BL6J recevant un régime riche en graisses (HFD ou « *high fat diet* ») ou un régime contrôlé (SD ou « *standard diet* »), seront exposés. Dans un premier temps, j'ai choisi de présenter les modifications métaboliques liées aux régimes afin de définir le modèle animal. Par la suite, je montrerai les conséquences d'un régime riche en graisses et du vieillissement sur la morphologie et la fonction cardiaque. Je décrirai ensuite la structure et le métabolisme du glucose au niveau du tissu adipeux blanc et brun. Ce métabolisme sera également étudié au niveau cardiaque. Puis j'annoncerai les résultats des paramètres fonctionnels cardiaques évalués par tomographie par émission de positons. Enfin, je développerai les altérations de l'expression de gènes impliqués dans l'inflammation, la fibrose et le vieillissement.

Dans la discussion j'évoquerai de nouveau les caractéristiques spécifiques du modèle animal choisi et son adéquation avec la littérature, ainsi que l'association du régime HFD avec l'apparition de troubles métaboliques hormonaux particuliers. L'influence du vieillissement et de la qualité du régime y seront discutés. Par la suite, je commenterai les résultats obtenus sur les niveaux de pression artérielle, fréquence cardiaque, et éléments de mesure échocardiographiques et obtention d'un phénotype bien défini. J'interpréterai les résultats d'analyse de la quantification et de l'activité métabolique des graisses brune et blanche de notre modèle. Je discuterai de l'intérêt de considérer l'expression des gènes impliqués dans la fibrose et le vieillissement cardiaque, en utilisant des méthodes de travail normées à l'état des connaissances scientifiques actuelles.

Enfin, en conclusion je discuterai de l'intérêt de comprendre les mécanismes du vieillissement accéléré et de définir des biomarqueurs de ce vieillissement accéléré afin de développer de nouvelles cibles d'actions thérapeutiques ou préventives.

ETAT DES CONNAISSANCES

I. Syndrome métabolique et obésité

a) Définition du syndrome métabolique chez l'homme

Le syndrome métabolique a été décrit pour la première fois en 1988 par Reaven sous le nom de syndrome X. Sa définition a fait l'objet de discussions au sein des communautés scientifiques.

C'est pourquoi, en 2005, l'International Diabetes Federation (IDF) a rassemblé un groupe d'experts afin de proposer une nouvelle définition du syndrome métabolique.

Ainsi, les experts de l'IDF ont établi que le syndrome métabolique regrouperait les symptômes suivants :

- *Une obésité abdominale* qui est la forme d'obésité la plus retrouvée dans le syndrome métabolique. Le marqueur préférentiel est la mesure du tour de taille, avec une valeur seuil différente selon l'origine ethnique des patients,
- *Des dyslipidémies athérogènes* caractérisées par une augmentation des triglycérides (TG) plasmatiques et une diminution du HDL cholestérol avec une augmentation d'apolipoprotéine B, de petites particules de LDL, et de petites particules de HDL,
- *Une résistance à l'insuline* présente dans la majorité des personnes atteintes du syndrome métabolique,
- *Une augmentation de la pression artérielle (PA),*
- *Un état pro-inflammatoire* caractérisé par une augmentation de la protéine C activé et une augmentation de cytokines inflammatoires,
- *Un état pro-thrombotique* avec augmentation de l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène du plasma (PAI) -1 et du fibrinogène.

L'IDF a également proposé la définition suivante pour le syndrome métabolique : une obésité centrale, correspondant à un tour de taille ≥ 94 cm pour les hommes et ≥ 80 cm pour les femmes (Europe), plus 2 des 4 paramètres suivants :

- un taux de TG augmenté : ≥ 150 mg/dL (1.7 mmol/L),
- une diminution du taux de HDL cholestérol : < 40 mg/dL (1.03 mmol/L) chez l'homme et < 50 mg/dL (1.29 mmol/L) chez la femme,

- une augmentation de la PA : pression systolique ≥ 130 ou pression diastolique ≥ 85 mm Hg, ou un traitement en cours pour l'hypertension artérielle,
- une augmentation de la glycémie à jeun : ≥ 100 mg/dL (5.6 mmol/L), ou un diabète de type 1 diagnostiqué.

b) Définition de l'obésité et prévalence

Le surpoids et l'obésité chez l'adulte sont déterminés par le calcul de l'indice de masse corporelle (IMC), une mesure qui prend en compte à la fois le poids et la taille. D'après l'organisation mondiale de la santé (OMS), un adulte est considéré en surpoids lorsque l'IMC est égal ou supérieur à 25 et obèse quand l'IMC est égal ou supérieur à 30. Cependant, il existe différentes catégories dans l'obésité. En effet, lorsque l'IMC est compris entre 35 et 40 on va parler d'obésité sévère et lorsque l'IMC dépasse les 40, on est en présence d'une obésité morbide ou massive.

Dans l'obésité, l'obésité abdominale est un facteur prédictif de la survenue de troubles métaboliques et cardiovasculaires indépendamment de l'IMC. On rencontre deux types d'obésité :

- Chez l'homme, elle est principalement retrouvée au niveau du haut du corps et est appelé obésité androïde,
- Chez la femme elle est principalement retrouvée au niveau inférieur du corps et est appelé obésité gynoïde. (Després, 2006)

D'après l'enquête Obépi 2012 (Roche, 2012), 15% des français adultes de 18 ans et plus présentent une obésité ($IMC \geq 30$ kg/m²). En 15 ans, le poids moyen de la population française a augmenté, en moyenne, de 3,6kg et le tour de taille de 5,3 cm. La prévalence de l'obésité est restée relativement stable entre 2009 et 2012 (respectivement 14,5% et 15%). Cependant, sa prévalence est toujours plus élevée chez les femmes que chez les hommes (15,7% versus 14,3%).

Dans le monde, la prévalence du surpoids et l'obésité a augmenté et accéléré depuis plusieurs années dans de nombreux pays et a donc été décrite comme une pandémie mondiale. En effet, la prévalence de l'obésité a doublé entre 1980 et 2014. En 2014, 13 % de la population

mondiale était obèse ce qui représente environ 500 millions de personnes. (Finucane et al., 2011; Stevens et al., 2012; Popkin et al., 2012; Ng et al., 2014).

c) Modèles animaux de syndrome métabolique et d'obésité

La mise au point de modèles animaux d'obésité et de syndrome métabolique a permis des avancées importantes dans la compréhension des mécanismes impliqués dans les pathologies associées.

Ainsi les modèles murins sont les plus souvent utilisés, compte tenu du fait que certaines souches de souris deviennent obèses spontanément, mais également qu'il est facile d'étudier l'influence d'un gène sur le syndrome métabolique ou l'obésité en développant des souris transgénique ou KO (« *Knock out* ») pour un gène d'intérêt. (Kennedy et al., 2010)

Les modèles animaux développant des mutations spontanées vont présenter une obésité mais également une résistance à l'insuline et des dyslipidémies. De ce fait, ils pourront être considérés comme un modèle de syndrome métabolique.

Comme exemple de souris, on peut citer les souris présentant une mutation du gène de la leptine ou souris $Lep^{ob/ob}$ et les souris déficientes au récepteur de la leptine ou souris $LepR^{db/db}$. Ces modèles vont devenir obèses, hyperinsulinémique, hyperglycémique et présenter une élévation du taux de cholestérol total. Les souris $Lep^{ob/ob}$, du fait de leur déficience en leptine, vont développer une obésité extrême, une hyperphagie et une diminution de la dépense énergétique. Selon le fond génétique, les souris $Lep^{ob/ob}$ vont développer des paramètres plus ou moins prononcés. Par exemple, les souris avec un fond C57BL/KsS présenteront une hyperglycémie plus importante que les souris avec un fond C57BL/6J. Les souris $LepR^{db/db}$ présentent un profil similaire aux souris $Lep^{ob/ob}$ mis à part qu'elles présentent une importante élévation du taux de leptine circulant (Speakman et al., 2007)

Il est également possible de créer des modèles animaux d'obésité ou de syndrome métabolique en générant artificiellement une mutation d'un gène conduisant à la perte de fonctions de celui-ci, on les appelle des modèles transgéniques.

Les souris KO pour le récepteur 4 de la mélanocortine sont un bon modèle de syndrome métabolique. Elles vont présenter des caractéristiques similaires à celles observées chez l'humain ayant des mutations pour le gène de MCR4 : c'est-à-dire une obésité, une

hyperphagie, une hyperglycémie, une hyperinsulinémie, un hypométabolisme et une augmentation de la masse maigre. Ces souris ne développent pas d'hypertension mais sont sensibles aux régimes riches en graisses. D'un autre côté, les souris KO pour le récepteur 3 de la mélanocortine présente uniquement une augmentation de l'adiposité. Des modèles de souris hyper lipidémiques ont également été développés afin d'étudier le syndrome métabolique. Les souris déficientes au récepteur des LDL ou souris LDLR^{-/-} développent une hypercholestérolémie et si elles sont placées sous un régime riche en graisses (« *High fat diet* », HFD), une hyperlipidémie sévère accompagnée d'athérosclérose, une obésité et une insulino résistance. Les souris ApoE^{-/-} développent également une hyperlipidémie sévère conduisant à l'athérosclérose. Cependant, elles ne présentent pas d'obésité et de résistance à l'insuline sauf si elles reçoivent un régime HFD. Il est également possible de croiser des modèles d'hyperlipidémie avec des fonds génétiques développant une obésité. Par exemple, des souris Lep^{ob/ob} ou LepR^{db/db} sur un fond génétique LDLR^{-/-} ou ApoE^{-/-} qui vont ainsi devenir obèses, hypercholestérolémiques, hypertriglycérodémiques et résistantes à l'insuline. (Kennedy et al., 2010)

Comme modèle d'obésité transgénique, on peut citer la souris transgénique dépourvue de POMC (« *Proopiomelanocortin* ») un précurseur d'alphaMSH (« *α-melanocyte-stimulating hormone* ») un neuropeptide anorexigène impliqué dans la réduction de l'appétit et l'augmentation de la dépense énergétique. Ainsi les souris POMC^{-/-} vont développer une obésité qui est d'autant plus marquée lorsqu'un régime HFD est donné. (Lutz & Woods, 2012)

Ces modèles sont souvent utilisés, cependant ils ne représentent pas vraiment ce qui se passe dans la réalité car le syndrome métabolique est caractérisé par un ensemble de facteurs et l'obésité est basée sur différents facteurs comme un apport élevé en calories.

Ainsi, il est possible de développer des modèles de syndrome métabolique ou d'obésité en administrant aux souris un régime HFD. L'introduction d'un tel régime a été mise en évidence à partir des années 1940 par Samuels (Samuels et al. 1942)

Différentes souches de souris peuvent être utilisées, cependant la souche la plus réceptive au régime est la souris C57BL6J.

En effet, lorsque ces souris sont nourries avec le régime HFD, elles vont développer :

- une obésité avec une augmentation de leur poids corporel,
- une hyperglycémie,

- une hyperinsulinémie,
- une hypercholestérolémie,
- une résistance à l'insuline,
- une résistance à la leptine
- ou encore une résistance au glucose. (Gallou-Kabani et al., 2007; Kim et al., 2008; Weisbrod et al., 2013; Bailey-Downs et al., 2013).

D'après une étude effectuée en 2007 par Buettner et ses collaborateurs, le meilleur régime conduisant à une obésité et une insulino résistance est un régime riche en graisse, semi-purifié, contenant des graisses animales représentant 40% de l'énergie, avec une faible quantité de ω -3 et une faible quantité d'huiles végétales riches en ω -6 et ω -9. (Buettner et al., 2007).

Il est nécessaire de prendre en compte qu'environ 50 % des souris vont montrer une résistance à ce régime et ne vont ainsi pas devenir obèses. Ainsi il est possible de différencier les animaux qui sont réceptifs au régime de ceux qui ne le sont pas en regardant le poids final. En effet Tulipano et al. (2004) a défini que les rats se trouvant dans le quartile le plus haut étaient désignés comme sujet à une obésité tandis que les rats se trouvant dans le plus bas quartile étaient considérés comme résistants. (Tulipano, 2004)

De plus, l'ingestion d'un régime HFD (60% calories) pendant une longue période (27 mois) entraîne une diminution du taux de survie comparé à des souris ayant reçu une alimentation standard. (Muller et al., 2013)

d) Effets cardiovasculaires

i) Modalités d'études

Une des méthodes de choix pour évaluer la fonction cardiaque est l'échocardiographie. Cette méthode inclut l'échocardiographie 2D et 3D, le Doppler pulsé, le Doppler couleur et le Doppler tissulaire. L'échocardiographie va permettre d'obtenir des informations sur l'anatomie et la fonction cardiaque.

La méthode recommandée pour la mesure de la fraction d'éjection est la méthode apicale biplan. Il est également possible de quantifier les volumes ventriculaires et de calculer la fraction d'éjection par échocardiographie 3D.

Le score de mouvement de la paroi du ventricule gauche (VG), les vitesses systoliques évaluées en Doppler tissulaire et les mesures de déformation peuvent être des indices de dysfonction systolique mais sont moins utilisés en pratique clinique courante.

L'évaluation de la fonction diastolique est importante dans le diagnostic des patients présentant une insuffisance cardiaque avec fraction d'éjection préservée.

La fonction diastolique est évaluée par échocardiographie mais également par doppler tissulaire. Elle est composée de 4 phases : (1) une phase de relaxation iso volumique où le volume du VG reste inchangé mais la pression diminue, (2) une phase de remplissage ventriculaire qui s'effectue par l'ouverture de la valve mitrale quand la pression de l'oreillette gauche est supérieure à la pression du VG, (3) une phase de remplissage passif où les pressions de l'oreillette gauche et du VG sont quasiment identiques, (4) une phase de contraction de l'oreillette gauche se terminant à la fin de la valve mitrale. La fonction diastolique va être caractérisée par la courbe du flux trans-mitral qui est composé de 2 ondes : l'onde E et l'onde A. L'onde E correspond au remplissage rapide du VG tandis que l'onde A correspond au remplissage tardif du VG. Différentes mesures vont pouvoir être effectuées à partir du flux trans-mitral : la mesure des pics de vitesse des ondes E et A, le rapport E/A, le temps de décélération de l'onde E, le temps de relaxation isovolumique.

La relaxation myocardique va être évaluée par doppler tissulaire en mesurant la vitesse de l'onde E' qui correspond à la vitesse du premier pic de diastole.

La dysfonction diastolique du VG est caractérisée par une diminution de E', inférieure à 9 cm/s correspondant à une relaxation du VG retardée ou une augmentation du rapport E/E' supérieur à 15 ou une combinaison de ces paramètres. (Authors/Task Force Members et al., 2012)

ii) Les différents modes d'imagerie

Pour accéder aux fonctions cardiaques, les principaux formats d'images sont:

- B-mode : image en temps réel en noir et blanc. Avec ce mode, il est possible de voir le cœur en 2D mais également l'artère pulmonaire, les carotides et l'arc aortique. Il est possible d'obtenir le cœur : en vue apicale 4 chambres avec la vue

des valves mitrales et tricuspides ; en vue parasternale grand axe ; en vue petit axe ; en vue parasternale droite.

- M-mode : il permet d'obtenir les paramètres fonctionnels du VG comme la fraction d'éjection, la fraction de raccourcissement, le débit cardiaque, le volume d'éjection, les diamètres inter ventriculaires et la masse du VG.
- Doppler : permet de déterminer le flux sanguin. Il est possible d'obtenir les temps de relaxation et de contraction, le ratio E/A, et le temps de décélération. Le Doppler couleur permet une visualisation de la direction et de la vitesse du flux sur l'image 2-D.
- 3-D : permet de visualiser les structures cardiaques de tout point de vue. L'image 3-D est reconstruite à partir de l'image 2-D.

(Ram et al., 2011)

iii) Conséquences de l'obésité et du syndrome métabolique sur le cœur

L'obésité augmente la prévalence des maladies cardiovasculaires et elle est un facteur prédictif indépendant de maladie cardiovasculaire et de dysfonction diastolique. De nombreuses études ont montré une association entre l'excès de poids et le développement de maladies coronariennes (Lavie et al., 2016). En effet, les personnes en surpoids ou obèses ont respectivement, 32 % et 81 % plus de risques de développer une maladie coronarienne par rapport à des personnes avec un poids normal (Bogers et al., 2007). On sait également que l'obésité est associée à un risque accru de mortalité due aux maladies cardiovasculaires (Calle et al., 1999). Cette augmentation est également retrouvée chez les personnes âgées (Wu et al., 2014b).

La prévalence d'une dysfonction diastolique est de 16% dans la population générale. Cependant, lorsque les personnes présentent un syndrome métabolique, la prévalence passe à 35%. Elle augmente encore d'autant plus lorsque les personnes présentent un diabète de type 2, une maladie coronarienne ou les deux (respectivement 50%, 60% et 70%). (Fischer, 2003; Fuentes et al., 2006)

Plusieurs études, que ce soit chez l'homme ou les animaux, ont montré que le syndrome métabolique était associé à une hypertrophie du VG, accompagnée d'une altération de la fonction diastolique.

Dans une cohorte de 607 sujets, avec une moyenne d'âge de 49 ± 13 ans, les sujets ont été classés en 3 groupes selon le nombre de critères de syndrome métabolique qu'ils possédaient : 0 critère = absence de syndrome métabolique, 1 – 2 = syndrome pré-métabolique, > 3 = syndrome métabolique. La cohorte est constituée de 110 sujets ne présentant pas de syndrome métabolique, 311 présentant un syndrome pré-métabolique et 186 présentant un syndrome métabolique. La dysfonction diastolique a été évaluée dans ses différents groupes par échocardiographie. Ainsi, la dysfonction diastolique est présente chez 9% des patients ne présentant pas de syndrome métabolique, 18% des personnes en syndrome pré-métabolique et 35 % des personnes avec un syndrome métabolique. En effet, on observe une altération de la relaxation du VG caractérisée par une augmentation de la masse du VG, une diminution du rapport E/A (due principalement à une augmentation de la vitesse d'onde A), un rallongement du temps de relaxation isovolumétrique et du temps de décélération. De plus, la PA diastolique, le tour de taille et le taux de TG sont indépendamment associés à la fonction de relaxation du VG. (Fuentes et al., 2006)

L'étude longitudinale « *The Strong Heart Study* », a montré que les patients présentant un syndrome métabolique ont deux fois plus de risques d'avoir une hypertrophie du VG. Cette association reste grande lorsque l'hypertension et l'obésité sont également prises en compte.

De plus, en présence d'une hypertrophie, le risque d'avoir un événement cardiovasculaire mortel ou non est plus élevé, que ce soit en présence de syndrome métabolique ou non. (Simone et al., 2009)

Une dysfonction diastolique du VG peut être présente chez des personnes présentant un syndrome métabolique sans d'hypertension. Cependant, lorsqu'elles présentent un syndrome métabolique couplé à une hypertension, les fonctions diastoliques sont plus atteintes. (Aksoy et al., 2014)

Masugata et ses collaborateurs (2006), ont déterminé la structure et la fonction cardiaque de sujets avec un syndrome métabolique mais ne présentant pas d'historique de maladies cardiovasculaires. Ils ont montré que les patients avec un syndrome métabolique peuvent présenter une dysfonction diastolique sans modification de la structure du VG et sans

dysfonction systolique. En effet, chez deux groupes de patients, présentant ou non un syndrome métabolique, aucune différence sur l'épaisseur de la paroi du VG, l'index de masse du VG ou de la fraction d'éjection du VG n'a été observé entre les deux groupes. Cependant, la fonction diastolique, évaluée par le rapport E/A, est différente entre les deux groupes. (Masugata et al., 2006)

Dans des modèles murins, une étude récente s'est penchée sur les effets à long terme d'un régime HFD sur le système cardiovasculaire. Après 8 mois de régime, les souris présentent bien des caractéristiques du syndrome métabolique. Elles présentent également un remodelage cardiaque avec une hypertrophie cardiaque concentrique et une hypertrophie des cardiomyocytes caractérisée par une augmentation de la taille du cœur couplée à un épaissement du septum intra ventriculaire et de la paroi du VG. A 16 mois, une altération de la fonction de contraction (utilisant la norépinephrine) est observée chez les souris obèses. Ce phénomène peut être dû à une altération de la synthèse de NO suite au régime HFD. La fonction de relaxation en réponse à l'acétylcholine diminue mais pas de façon significative. Aucune différence significative n'a été observée concernant la PA. (Calligaris et al., 2013)

Chez des souris nourries avec un régime riche en graisses et en sucres pendant 8 mois, on observe également une hypertrophie du VG avec une augmentation de l'épaisseur de la paroi, dès 2 mois de régime. Cette hypertrophie est associée à une dysfonction diastolique du VG après 8 mois, caractérisée par une prolongation du temps de relaxation isovolumétrique (TRIV) et du temps de décélération couplée à une diminution du rapport E/A. De plus, le doppler tissulaire montre une diminution d'Em, correspondant à la vitesse du premier pic de diastole, et du rapport E/Em. Ainsi, de par ses résultats, on observe une altération de la relaxation du VG. La fonction systolique est préservée. (Qin et al., 2012)

Ces deux modèles présentent un phénotype cardiaque très similaire à celui retrouvé chez les humains.

e) Implication de l'inflammation

i) La réponse inflammatoire

L'inflammation est une réponse physiologique de l'organisme à une agression externe ou interne. Différentes cellules vont entrer en jeu dans le processus inflammatoire. Les médiateurs inflammatoires tels que les chimiokines et les cytokines vont être synthétisées à partir des macrophages tissulaires résidents et des mastocytes. Suite à l'initiation de la réponse inflammatoire, l'endothélium va être activé et va permettre la libération des polynucléaires neutrophiles qui vont libérer leurs agents toxiques et des enzymes protéolytiques. L'agent infectieux va ainsi être éliminé. Les cellules inflammatoires vont subir une apoptose et être phagocytées par les macrophages qui vont induire un signal anti-inflammatoire en sécrétant IL-10 ou TGF β . Cependant, le processus inflammatoire peut persister et conduire ainsi au développement d'un état inflammatoire chronique.

ii) Syndrome métabolique, obésité et inflammation

L'obésité et le syndrome métabolique vont tous les deux être caractérisés par un état inflammatoire. Différents noms ont été données pour cet état inflammatoire : « *low-grade chronic inflammation* » du fait que l'activation de l'inflammation n'est pas importante ; « *meta-inflammation* » pour inflammation déclenchée par le métabolisme ou encore « *para-inflammation* » désignant un état intermédiaire d'inflammation. (Monteiro & Azevedo, 2010)

Cet état inflammatoire va être caractérisé par une augmentation de nombreux marqueurs inflammatoires. Parmi eux, on peut par exemple citer la CRP (« *C-reactive protein* »). Bochud et son équipe ont mis en évidence, dans une étude transversale, que le taux de CRP circulant était corrélé positivement à l'indice de masse corporel chez les femmes et que cette observation était principalement due à la masse grasseuse. (Bochud et al., 2009)

L'obésité est également associée à une activation de la réponse immunitaire innée. Nijhuis a ainsi étudié un processus fondamental dans la réponse immunitaire innée : l'activation des neutrophiles. Cette activation a été évaluée par la mesure du taux de myéloperoxydase et de calprotectine chez des sujets présentant une obésité morbide. Il a été mis en évidence dans

cette étude une augmentation significative du taux de ces 2 marqueurs chez les sujets obèses. (Nijhuis et al., 2009)

Dans une revue de 2006, Fain a compilé les données de 4 études où les taux circulants de CRP, TNF α , IL-6, PAI-1 (« *plasminogen activator inhibitor-1* ») et de leptine ont été comparés entre des sujets non obèses, des sujets ayant une obésité morbide et des sujets ayant subi une chirurgie bariatrique. Pour les sujets non obèses, les taux d'IL-6 et de TNF α sont faibles tandis que chez les sujets obèses, ils sont élevés. Le taux circulant de leptine, est au moins 1000 fois supérieur au taux de cytokines. De plus, la concentration de PAI-1 dans le sang est 4.5 fois supérieure à la concentration de la leptine. Les concentrations de ces différentes protéines sont grandement élevées chez les sujets présentant une obésité morbide et la chirurgie bariatrique contribue à leur diminution. (Fain, 2006)

Chez les personnes âgées présentant une obésité, un état pro-inflammatoire est également retrouvé. Cela a notamment été mis en évidence dans une publication de 2012. L'étude a été effectuée chez 179 sujets, provenant de l'étude LIFE-P (« *Lifestyle Interventions and Independence for Elders Pilot* »), ayant une moyenne d'âge de 77 ans. 12 marqueurs inflammatoires ont été mesurés et le tour de taille et l'IMC ont été calculés. Il a été mis en évidence qu'une augmentation de 1 SD (« *Standard Deviation* ») du tour de taille, de l'IMC ainsi que de la composition en graisse, était positivement corrélé aux taux de CRP, IL-1ra et d'IL-6. Ainsi, ces marqueurs semblent jouer un rôle important en présence d'une adiposité élevée chez les personnes âgées (Brinkley et al., 2012)

Cet état inflammatoire associé à l'obésité va conduire à un état de stress. En effet, Patel et ses collaborateurs ont démontré que l'absorption d'un repas riche en graisses ou riche en glucides, chez des sujets obèses, conduisait à une augmentation de la production de ROS caractéristique d'un état de stress oxydatif (Patel et al., 2007).

Une des voies de signalisation impliquée dans le développement de cet état inflammatoire est la voie NF-kb (« *nuclear factor-kb* ») et l'inhibiteur de kB kinase- β (IKKB). En effet, il a été mis en évidence que ces voies étaient activées en présence d'une obésité ou chez des animaux ayant reçu un régime HFD mais également en présence d'une résistance à l'insuline (Shoelson et al., 2003).

D'autres facteurs ayant une activité pro-inflammatoire ont montré être également impliqués dans l'inflammation induite par l'obésité : les JNK (« *c-Jun N-terminal protein kinases* »). Il a été montré que l'activité des JNK était fortement élevée en présence d'une obésité (Hirosumi et al., 2002) et qu'une ablation de JNK et notamment de JNK1 au niveau du compartiment des cellules hématopoïétiques, protégeait les animaux d'une inflammation induite par l'obésité (Solinas et al., 2007)

Plusieurs études ont mis en évidence que le tissu adipeux était un tissu métaboliquement actif et que les adipocytes le composant vont être capable de synthétiser et d'exprimer un grand nombre d'adipokines et de cytokines pro-inflammatoires, ce qui va contribuer à l'augmentation de leur taux circulant.

En effet, Fain et son équipe ont mis en évidence que le tissu adipeux est le principal lieu de libération et de synthèse d'adipokines chez des sujets présentant une obésité massive, c'est-à-dire avec un IMC supérieur à 40. Pour mettre en évidence cela, ils ont examiné les adipokines relâchées par des explants de tissu adipeux viscéral ou sous cutané provenant de femmes ayant subies une abdominoplastie ou un by-pass pour le traitement de l'obésité morbide. Ainsi, il a été mis en évidence une libération plus importante de prostaglandine ED2 et d'IL-6 que d'adiponectine. De plus, le tissu adipeux viscéral semble le lieu privilégié pour la libération de facteur pro-inflammatoire comme le VEGF (« *vascular endothelial growth factor* »), l'IL-6 ou encore le PAI-1. Les sujets présentant une obésité massive, présentent une libération beaucoup plus importante de TNF- α , IL-8 et IL-10 par rapport à des sujets obèses de classe 1 (IMC entre 30 et 34.9). (Fain et al., 2004)

Bien que le tissu adipeux viscéral soit le lieu privilégié de synthèse et de libération de facteurs pro-inflammatoires, des études ont également mis en évidence que le tissu adipeux sous cutané peut contribuer à l'état pro-inflammatoire observé en présence d'obésité. Ainsi, Bremer et son équipe ont mis en évidence que le tissu adipeux sous cutané, chez des personnes présentant un syndrome métabolique, sécrétait d'avantage d'adipokines (IL-1, IL-6, leptine, RBP-4, CRP, SAA, et chemerine) et que le taux d'adipokines circulantes augmentait (IL-1, IL-6, leptine, RBP-4, CRP, SAA, et chemerine), par rapport à des sujets ne présentant pas de syndrome métabolique. (Bremer et al., 2011)

L'obésité va également favoriser l'inflammation au niveau du tissu adipeux péri vasculaire. Cela a été mis en évidence par plusieurs équipes.

En 2009, l'équipe de Police a montré une augmentation de l'ARNm de MCP-1 (« *macrophage chemoattractant protein 1* ») et de CCR2 (« *chemokine receptor type 2* ») plus importante dans le tissu adipeux péri aortique provenant de l'aorte abdominale par rapport au tissu adipeux provenant de l'aorte thoracique chez des souris ayant reçu en régime HFD de 4 mois. De plus, une plus grande concentration de MCP-1 est libérée par des explants provenant du tissu adipeux péri aortique d'aortes abdominales. Ainsi le tissu adipeux se trouvant autour de l'aorte abdominale est donc en partie responsable de l'inflammation observée suite à un régime HFD. (Police et al., 2009)

Plus récemment, Weisbrod et ses collaborateurs ont démontré qu'un régime riche en graisses et en sucres était également caractérisé par une inflammation au niveau de l'aorte. En effet, dès 2 mois de régime, les souris présentaient une augmentation importante de l'expression de marqueurs inflammatoires : TNF α , MCP-1 et MIP1 α (« *macrophage infiltrating protein 1 α* ») par rapport à des souris n'ayant pas reçu de régime. (Weisbrod et al., 2013)

Cet état inflammatoire retrouvé au niveau du tissu adipeux péri vasculaire, suite à une obésité, va être aggravé par le vieillissement et contribuer à l'augmentation du stress oxydant vasculaire et de l'inflammation. Cela a été mis en évidence par l'équipe de Bailey-Downs. Dans cette étude des souris C57BL/6 ont reçu pendant 5 mois, soit un régime standard, soit un régime HFD. Les souris à la fin de l'étude étaient âgées de 7 ou 24 mois. Il a été montré que le vieillissement conduit à une augmentation du taux de MCP-1 et de MIP1 α dans les aortes de souris âgées obèses mais également à une augmentation de la production de ROS au niveau du tissu adipeux péri vasculaire, caractéristique d'un stress oxydatif. Afin d'étudier les effets de l'obésité et du vieillissement sur la sécrétion de cytokines du tissu adipeux péri vasculaire, le tissu adipeux se trouvant autour de l'aorte abdominale a été enlevé et mis en culture pour ainsi obtenir des secrétomes analysés par *multiplex protein array system*. Ainsi, l'obésité est caractérisée par une augmentation de la sécrétion de marqueurs inflammatoires chez les souris jeunes et âgés. L'aorte est donc bien un site de production de facteurs pro-inflammatoire. Par la suite, des aortes de souris jeunes ont été mises en contact avec le secrétome du tissu adipeux provenant des aortes de souris jeunes ayant reçu un régime riche en graisse. Cette exposition conduit à une augmentation du stress oxydant qui est d'avantage augmenté lorsque le secrétome provient de souris âgées obèses. (Bailey-Downs et al., 2013)

Kim et son équipe ont mis en évidence que l'inflammation ainsi que la résistance à l'insuline au niveau vasculaire se développaient précocement par rapport aux autres tissus comme le muscle, le foie ou le tissu adipeux. Pour mettre en évidence cela, des souris males C57BL/6 âgées de 6 à 12 semaines au début de l'étude ont reçu soit un régime faible en graisses (10 % de graisses saturées) soit un régime HFD (60 % de graisses saturées) pour des périodes allant de 1 à 14 semaines. L'inflammation a été déterminée en mesurant la phosphorylation d'I κ B α et la résistance à l'insuline par la phosphorylation d'Akt induit par l'insuline. Le taux d'I κ B α phosphorylé, déterminée par Western blot dans des lysats aortiques, est deux fois plus élevé et ce dès la première semaine de régime HFD. Cette apparition précoce de l'inflammation au niveau vasculaire est accompagnée d'une résistance à l'insuline. Ces deux phénomènes sont également observés dans le muscle squelettique et le foie mais après 4 à 8 semaines de régime HFD. Au niveau du tissu adipeux, ces phénomènes sont observés seulement après 14 semaines de régime HFD. Ainsi, la paroi artérielle semble plus sensible que les autres tissus aux conséquences d'un régime HFD. (Kim et al., 2008)

L'inflammation au niveau du tissu adipeux semble jouer un rôle important dans le développement de la résistance à l'insuline.

Van der Heijden et son équipe ont en effet montré que l'inflammation au niveau du tissu adipeux, apparaît précocement par rapport à la résistance à l'insuline. En effet, après 24 semaines de régime HFD, une augmentation de l'expression de gènes pro-inflammatoires tels que TNF, IL-1b, MCP1 et F4/80 est observée, tandis que la résistance à l'insuline survient après 24 et 40 semaines de régime. (van der Heijden et al., 2015)

Le macrophage est une cellule clé qui a montré jouer un rôle dans l'inflammation.

Au niveau du tissu adipeux il représente la majeure partie des cellules immunitaires et cela est encore plus vrai en présence d'une obésité. En effet il a été montré, chez le rongeur, que l'expression de gènes codant pour des protéines caractéristiques des macrophages était corrélée positivement avec le poids. De plus, les macrophages provenant des différents tissus adipeux sont également responsables de l'expression de cytokines pro-inflammatoire comme TNF α ou IL-6. (Weisberg et al., 2003)

Les macrophages peuvent être divisés en deux types de sous-populations : M1 ou M2. Les macrophages M1 vont entraîner une production accrue de cytokines pro-inflammatoires. Les macrophages M2 présentent une plus faible expression de cytokines pro-inflammatoires et vont conduire à la production de cytokines ayant un effet anti-inflammatoire. Lumeng et ses

collaborateurs ont montré que l'obésité conduit à un changement de phénotype des macrophages. En effet, chez les souris n'ayant pas reçu de régime HFD, les macrophages expriment des gènes caractéristiques de macrophages M2 tandis que les macrophages provenant de souris obèses présentent une diminution de ces gènes et une augmentation de l'expression de gènes caractéristiques de macrophages M1. (Lumeng et al., 2007)

f) Quantification de la graisse par tomographie par émission de positons couplée au scanner

i) Caractéristiques de la tomographie par émission de positons

La tomographie par émission de positons couplée au scanner (TEP scanner) est une technique associant une imagerie fonctionnelle quantitative, la tomographie par émission de positons (TEP), et la tomodensitométrie (CT) qui permet d'obtenir des informations morphologiques précises sur le patient. Le TEP permet de mesurer in vivo et de manière non traumatique la distribution volumique d'un traceur.

Depuis son développement il y a près de 20 ans, l'utilisation de l'imagerie par TEP sur les petits animaux ne fait qu'augmenter. Cependant elle implique certaines contraintes. Ainsi, il est nécessaire de mettre l'animal sous anesthésie et de maintenir sa température corporelle. Le volume de traceur injecté doit tenir compte du volume sanguin total de l'animal afin que celui-ci n'affecte pas l'état physiologique naturel de l'animal. Pour la résolution spatiale, elle doit être 15 fois meilleure que celle utilisée pour le PET chez l'humain afin de visualiser les mêmes détails structuraux. (Yao et al., 2012)

ii) Le 18 FDG

Un des traceurs le plus utilisé dans l'imagerie TEP est le ^{18}F -FDG (2-deoxy-2- ^{18}F -fluoro-D-glucose). Le ^{18}F -FDG est un analogue du glucose dont la propriété est sa captation intense par les cellules entrant en jeu dans le processus inflammatoire et notamment les macrophages.

Le 18F-FDG va entrer dans les cellules de par les transporteurs GLUTs (« *glucose transporters* »). Les transporteurs GLUTs sont des protéines d'environ 500 acides aminés.

Il en existe 13 cependant les plus connus sont : GLUT 1 à 4 (GLUT1, 3 et 4 possédant une grande affinité pour le glucose) et GLUT6. En temps normal, le glucose va entrer dans les cellules et subir une phosphorylation par l'hexokinase pour donner le glucose-6-Phosphate. Suite à cette phosphorylation, le glucose-6-phosphate va rentrer dans la réaction de glycolyse et être catalysé par l'hexo-6-phosphate isomérase qui va conduire à la formation de fructose-6-phosphate. Contrairement au glucose, le ^{18}F -FDG ne va pas être métabolisé dans la cellule. En effet, il va être transporté dans la cellule de façon identique au glucose puis va être phosphorylé par l'hexokinase est former le ^{18}F -FDG-6-phosphate. La conversion en fructose-6-phosphate ne va pas être possible, et le ^{18}F -FDG-6-phosphate va ainsi s'accumuler dans la cellule. L'absorption du FDG est généralement évaluée en termes de SUV (« *standard uptake value* »). (Figure 1) (Sheikine & Akram, 2010)

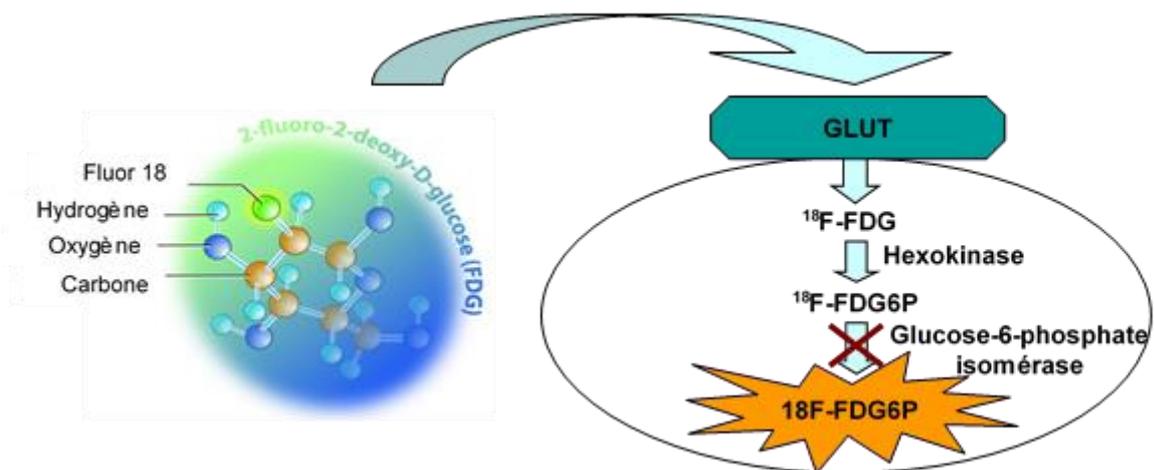


Figure 1 : Schéma du métabolisme du FDG dans une cellule.

iii) Définition de la graisse brune

Le tissu adipeux brun (TAB) est impliqué dans la thermogenèse, phénomène important pour la survie des petits animaux dans un environnement froid. Il est constitué de nombreuses mitochondries qui vont oxyder les substrats et libérer ainsi de la chaleur. Ce phénomène est amplifié par la présence de la protéine découplante 1 ou UCP-1 (« *uncoupling protein 1* ») présente au niveau de la membrane interne de la mitochondrie.

UCP-1 est également retrouvé au niveau des adipocytes du tissu adipeux blanc suite à une stimulation par le froid ou béta adrénergique. Les adipocytes sont alors appelés adipocytes beiges ou « brite » (« *brown in white* »). Ils sont caractérisés par des gouttelettes lipidiques multiloculaires et l'expression de gènes retrouvés au niveau du TAB comme UCP-1.

Le TAB se forme durant le développement embryonnaire. Chez les rongeurs, on le retrouve principalement au niveau interscapulaire. Les adipocytes du TAB proviennent de précurseurs se trouvant dans le mésoderme embryonnaire. Au niveau de ces précurseurs, on retrouve l'expression de deux gènes, Myf5 (« *Myogenic factor 5* ») et Pax7 (« *Paired box 7* »). Ils vont donner lieu à la formation de pré-adipocytes bruns. Ebf2 (« *Early B-Cell Factor-2* ») et Ppar γ (« *Peroxisome proliferator-activated receptor- γ* »), vont induire l'expression du facteur de transcription Prdm16 (« *PR-domain containing protein-16* »), une grande protéine à doigt de zinc qui va entraîner la différenciation des pré-adipocytes bruns en adipocytes bruns. Suite à une exposition au froid, il va y avoir une expression de Pgc1 α (« *Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha* »), un co-activateur transcriptionnel, qui va conduire à l'activation de la graisse brune. (Figure 2) (Symonds, 2013; Harms & Seale, 2013)

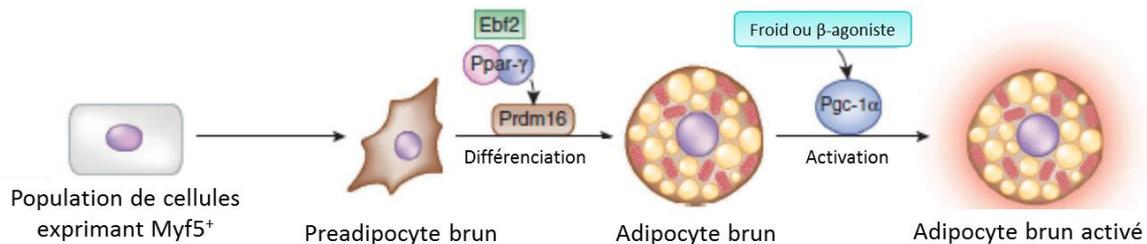


Figure 2 : Régulation transcriptionnelle du développement et de l'activation des adipocytes bruns.

Figure adaptée de Harms & Seale, 2013

iv) Evaluation du métabolisme de la graisse brune

Peu de méthodes sont disponibles pour mesurer l'activité du TAB chez les humains.

En 2009, une étude a été effectuée chez environ 2000 patients et la présence ou non de TAB a été mise en évidence par l'analyse d'image de TEP/CT au ¹⁸FDG. L'analyse des images TEP ont permis de mettre en évidence que le TAB se retrouvait principalement au niveau cervical - supraclaviculaire mais qu'il pouvait également se retrouver jusqu'entre les muscles sous-scapulaires et pectoraux. Le TAB a été davantage mis en évidence chez les femmes, les patients ayant un âge inférieur à 50 ans, les patients présentant un taux de glucose à jeun le plus faible et ceux n'ayant jamais fumé et pris de beta-bloquants. La température extérieure joue un rôle sur l'activité du TAB, puisque celle-ci était plus élevée en hiver et plus faible au printemps, à l'automne ou encore en été. (Cypess et al., 2009)

Chez des patients obèses morbides, il a également été possible de déterminer l'activité de la graisse brune par stimulation au froid. La technique TEP FDG couplée au scanner a été utilisée. Ainsi, une forte corrélation a été retrouvée entre l'activité de la graisse brune et l'indice de masse corporel et le pourcentage de graisse dans le corps. De plus, seuls les sujets ayant une activité de la graisse brune présentaient une augmentation de leur dépense énergétique suite à une exposition au froid. Cette étude a permis de mettre en évidence que chez l'Humain, la graisse brune était également impliquée dans la thermogénèse adaptative. (Vijgen et al., 2011)

Plusieurs études ont montré que la technique d'imagerie microTEP au ¹⁸FDG permettait d'évaluer le métabolisme du glucose au niveau du TAB dans des modèles murins.

La visualisation du TAB activé a par exemple pu être mis en évidence dans un modèle murin déficient en la protéine UCP1 en utilisant la technique TEP-FDG. Pour cela les souris contrôles (C57BL) ou KO pour UCP1, c'est-à-dire des souris pour lesquelles le gène UCP1 a été inactivé, ont reçu une dose de FDG et ont ensuite été placées dans un environnement froid (4°C pendant 4h) ou chaud (39°C pendant 4h). L'intensité de captation du FDG par le TAB a été évalué en mesurant le ratio appelé RISC (« *Ratio of Inter-scapular uptake scaled by cerebellum uptake* »). Après une exposition au froid, le RISC augmente chez les souris contrôles mais pas chez les souris où le gène UCP1 a été inactivé. Cela confirme le rôle important d'UCP1 dans le processus de thermogénèse. (Jeanguillaume et al., 2013)

L'activité métabolique de la graisse brune, évaluée par TEP-FDG, peut être étudiée en utilisant des molécules qui vont activer les récepteurs β_3 adrénergique.

Mirbolooki et son équipe ont utilisé des rats auxquels ils ont administré ou non un activateur des récepteurs B_3 adrénergiques, le CL316,243 et ont comparé ces animaux à des animaux exposés au froid. La quantification de la captation du FDG est exprimée en SUV (« *standard uptake value* ») qui prend en compte l'activité du FDG dans un volume d'intérêt et la dose de FDG injecté. Il a été mis en évidence que suite au traitement par CL316,243 il est bien possible de visualiser la graisse brune par TEP au niveau interscapulaire, cervical, péri-aortique et intercostale. Cela a été confirmé par autoradiographie et histologie au niveau interscapulaire. La captation du FDG au niveau interscapulaire augmente de façon dose dépendante. (Mirbolooki et al., 2014)

Van der Veen (2012) et son équipe ont mis en évidence par microTEP/CT que le métabolisme du glucose au niveau du tissu brun adipeux suivait un « rythme ». En effet, ils ont montré par différents examens TEP, que l'absorption du FDG était plus élevée au moment de la moitié de la phase lumineuse puis que cette absorption diminuait au début de la phase d'obscurité. (van der Veen et al., 2012)

v) Graisse brune et vieillissement

Le vieillissement va conduire à des désordres métaboliques. Comme nous l'avons vu précédemment, les Hommes adultes possèdent de la graisse brune qu'il est possible de visualiser par TEP. Bien qu'il soit possible de détecter du TAB chez les personnes âgées, sa quantité et son activité décline fortement avec l'âge. Cypess et ses collaborateurs ont rapporté que le TAB était détecté trois fois plus chez les personnes ayant un âge inférieur à 50 ans que chez les personnes âgées de plus de 64 ans et que l'indice de masse corporel était un prédicteur négatif de présence de TAB avec l'augmentation de l'âge. (Cypess et al., 2009)

Une autre étude a mis en évidence que l'âge était un fort déterminant négatif de la masse de TAB et que son activité diminuait également avec l'âge. Cette diminution d'activité au niveau du TAB avec l'âge pourrait s'expliquer par une diminution des dépôts au cours du vieillissement. (Pfannenbergl et al., 2010).

Une diminution de l'activité de la graisse brune au cours du vieillissement a également été retrouvée dans des études animales.

Chez des rats mâles âgés, la thermogénèse sans frissons induite par le froid ou par la norépinephrine est fortement diminuée comparés à des rats mâles jeunes. Les auteurs mettent en avant que la diminution de la thermogénèse serait principalement due à une diminution de fonctionnalité de la graisse brune plutôt qu'à une diminution de l'activité sympathique du TAB. Ainsi les rats âgés vont être plus prédisposés à une accumulation de masse grasse. (McDonald & Horwitz, 1999)

vi) Graisse brune et obésité

De nombreuses études ont mis en évidence qu'une absence ou une diminution d'activité de TAB était corrélée avec une obésité que ce soit chez l'Homme ou dans des modèles animaux. (Vijgen et al., 2011)

En effet, récemment Wu (2014) a mis en évidence que, dans un modèle murin, l'obésité induite par la prise d'un régime HFD durant 8 semaines ou un diabète induit par l'injection de Streptozocin pendant 3 jours, conduit à une diminution de la captation du FDG au niveau de la graisse brune interscapulaire par rapport aux souris contrôles. La différence de métabolisme de la graisse brune peut être expliquée par un taux plus élevé de glucose dans le sang qui a montré avoir un effet négatif sur le métabolisme du glucose de la graisse brune interscapulaire. (Wu et al., 2014a)

Plusieurs études ont mis en évidence que la thermogénèse du TAB, permet de lutter contre l'obésité induite par l'alimentation.

Il y a quelques années, des souris présentant une destruction des adipocytes bruns, ont été mise au point. Elles sont caractérisées par une dépense énergétique réduite associée à une obésité et une résistance à l'insuline. (Lowell et al., 1993; Hamann et al., 1998)

Une des protéines principalement retrouvée au niveau de la graisse brune, UCP-1 est impliquée dans le phénomène de thermogénèse induite par l'alimentation.

En 2009, Feldmann a mis en évidence que l'ablation de UCP-1 chez des souris C57BL6J, dans des conditions de thermo neutralité, conduisait à une obésité qui était encore plus massive lorsque les souris étaient sous un régime HFD. Il a également été observé que les souris contrôles, c'est-à-dire n'ayant pas d'ablation de UCP-1, suite à un régime HFD,

présentaient une thermogénèse tandis qu'aucun effet de cette sorte n'était retrouvé chez les souris où UCP-1 est absente. Ainsi il semblerait que UCP-1 soit fortement impliquée dans la thermogénèse induite par l'alimentation. (Feldmann et al., 2009)

g) Quantification de la graisse par imagerie par résonance magnétique nucléaire

i) Généralité sur l'IRM

L'appareil utilisé pour la méthode d'imagerie à résonance magnétique (IRM) est principalement constitué d'un aimant qui va créer un champ statique entraînant une magnétisation macroscopique. L'aimant va être caractérisé par : son intensité de 1.5 à 3 Teslas ; la stabilité du champ ; l'homogénéité ; le volume utile.

L'IRM repose sur les propriétés magnétiques des atomes. Chaque atome est caractérisé par un vecteur de magnétisation qui possède une orientation aléatoire dans l'espace. Lorsque les protons contenus dans le noyau de l'atome sont soumis à un champ magnétique, deux angles de précessions vont être possibles : un où le vecteur d'aimantation va être dans le sens du champ magnétique c'est-à-dire parallèle et un où le vecteur va être dans le sens contraire du champ magnétique c'est-à-dire antiparallèle. A l'état d'équilibre, les protons parallèles en excès vont être à l'origine de l'apparition d'un vecteur d'aimantation macroscopique qui va être aligné au champ magnétique. Lorsqu'ils sont excités par une onde radio à une fréquence donnée, le vecteur d'aimantation va basculer d'un certain angle. A l'arrêt de l'onde, le vecteur des atomes revient à sa position d'équilibre et émettre un signal, on appelle ce phénomène la relaxation. Il existe une relaxation longitudinale (la repousse de M_z , qui correspond au T1 avec une repousse progressive) et une relaxation transversale T2 (avec une composante transversale qui décroît rapidement et également un déphasage des spins qui avaient été mis en phase par l'excitation RF). Ce sont les mesures de T1 et T2, les temps de relaxation, qui sont à l'origine des images IRM.

ii) Méthodes d'évaluation de la graisse par IRM

Comme nous l'avons vu précédemment, la technique TEP permet à la fois la détection et la mesure de l'activité de la graisse brune chez la souris et chez l'Homme. Cependant, peu d'études prospectives sont effectuées chez l'Homme du fait du cout d'utilisation des radio-

traceurs et de l'exposition aux radiations. Ainsi, la technique d'IRM s'est développée afin de pouvoir à la fois définir la quantité de graisse brune mais également son activité.

Hamilton et son équipe ont mis en évidence qu'il était possible de différencier la graisse blanche et la graisse brune de part : les propriétés physiques comme le temps de relaxation T1 et le degré de saturation en lipides et les fractions de graisse. Des échantillons de tissus adipeux murins, à la fois de graisse brune et de graisse blanche, ont été prélevés et les spectres des différents tissus ont été récupérés en passant les échantillons dans une IRM corps entier clinique de 3 Teslas. En connaissant la structure chimique des triglycérides, il va être possible de déterminer les différents types de triglycérides présents dans les échantillons. Par rapport à l'échantillon de tissu adipeux blanc, le TAB présente une fraction d'eau plus importante. De plus, les spectres de graisses permettent de mettre en évidence la moindre présence de triglycérides insaturés au niveau du TAB. (Hamilton et al., 2011)

Une équipe a également mis en évidence qu'il était possible de détecter le TAB chez la souris et de le différencier du tissu adipeux blanc en utilisant la technique de « IDEAL (« *Iterative Decomposition with Echo Asymmetry and Least squares estimation* ») fat-water imaging ». Cette technique utilise une stratégie d'acquisition de données multi-échocs permettant d'obtenir les signaux de l'eau et de la graisse et par la suite d'évaluer la fraction de graisse, celle-ci étant caractérisée par de multiples pics de résonance de protons. Du TAB interscapulaire et du tissu adipeux blanc gonadal ont été prélevés sur des souris. Les échantillons ont été passés dans une IRM de 3 Teslas. Une séquence IDEAL a été utilisée. Ainsi, suite à l'excitation des tissus, il est possible de distinguer clairement le TAB du tissu adipeux blanc. En effet ceux-ci ne présentent pas la même couleur. Les images provenant de IDEAL mettent en évidence que le TAB a un contenu en graisse plus faible que le tissu adipeux blanc et possède une fraction plus importante d'eau que le tissu adipeux blanc. (Figure 3) (Hu et al., 2010). Ainsi il est possible d'utiliser le 3D IDEAL IRM afin de distinguer la graisse brune de la graisse blanche. De plus comme nous avons pu le voir précédemment, la fraction de graisse est moins importante dans ce tissu que dans le tissu adipeux blanc.

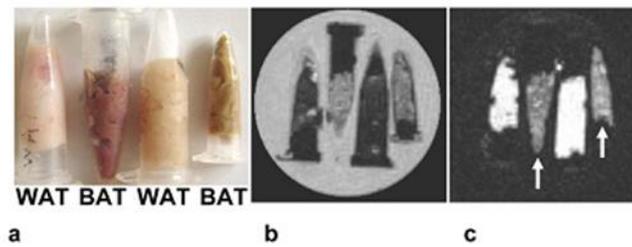


Figure 3 : Tissus adipeux suite à l'utilisation de la technique IDEAL.

(a) Visualisation du tissu adipeux blanc (WAT « *white adipose tissue* ») et du tissu adipeux brun (BAT « *brown adipose tissue* ») ; (b) fraction d'eau ; (c) fraction de graisse. Adaptée de Hu et al., 2010.

Une autre équipe a mis en évidence qu'il était possible de déterminer *in vivo* chez le rat, le volume et la fonction métabolique de la graisse brune en utilisant une IRM de 9.4 Teslas. De par les caractéristiques morphologiques de la graisse brune, il a été possible de mesurer sa distribution volumique. En effet, les séquences IRM de la graisse brune présentent un fort contraste eau- graisse. Les volumes de graisse brune estimés par IRM sont corrélés aux volumes de graisse brune après dissection de l'animal. De plus, ces dissections post-mortem ont permis de mettre en évidence que la graisse observée par IRM était bien de la graisse brune en étudiant l'expression d'UCP1, une protéine impliquée dans le métabolisme de la graisse brune. Enfin, cette technique permet d'évaluer également le métabolisme de la graisse brune. (Chen et al., 2012)

Plus récemment, une équipe a utilisé le « *multi-parametric MRI* ». Cette technique permet de segmenter, de caractériser les volumes, de déterminer la composition et les propriétés biophysiques des tissus adipeux. La segmentation automatique permet de diminuer le travail manuel et ainsi d'être plus précis pour les études longitudinales de grosses cohortes. L'étude a été effectuée sur des rats Wistar mâle à 7 et 11 semaines. Ces rats sont soit restés en thermo-neutralité soit ont subi une exposition au froid. Les IRM ont été effectuées sur une IRM de 7 Teslas. L'approche multi paramétrique a permis la délimitation du TAB interscapulaire, du tissu adipeux blanc et des régions musculaires. Ces régions d'intérêt sont comparables aux mesures effectuées manuellement. Les rats âgés de 11 semaines présentent une diminution du volume de graisse brune interscapulaire comparés aux rats âgés de 7 semaines. De plus, l'exposition au froid entraîne une augmentation du volume de graisse brune interscapulaire par rapport aux rats restés en thermo-neutralité. La fraction de graisse est

moins importante dans la graisse brune que dans la graisse blanche. L'étude histologique ainsi que l'évaluation de l'expression d'UCP1 a permis de confirmer la présence de TAB. (Prakash et al., 2016)

h) Syndrome métabolique, obésité et vieillissement

D'après l'étude « *National Health and Nutrition Examination Survey* » effectuée aux Etats-Unis entre 2007 et 2010, plus d'un tiers des personnes âgées de 65 ans et plus sont obèses. Cette prévalence est d'avantage élevée dans la tranche d'âge des 65-74 ans et a augmenté entre 1999-2002 et 2007-2010.

Il a été mis en évidence que le syndrome métabolique, chez les personnes âgées, conduisait à une augmentation de la mortalité.

Akbaraly et ses collaborateurs ont étudié une cohorte « *Three-City* » composée de 7118 hommes et femmes âgés de 65 ans. Les sujets ayant un syndrome métabolique au début de l'étude présentaient 50% de risque de plus de mortalité toutes causes confondues que les sujets sans syndrome métabolique. Les principaux responsables sont : un taux de glycémie à jeun élevé, un taux élevé de triglycérides et un faible taux de HDL cholestérol. De plus, les sujets ayant un syndrome métabolique ont 2,21 fois plus de risque de mourir d'une maladie coronarienne et 1,49 fois plus de risque de mourir d'un cancer. (Akbaraly et al., 2010)

Cette observation est également retrouvée dans des modèles animaux.

En effet, en 2013, une étude a été effectuée afin d'étudier les effets d'une consommation à long terme d'un régime HFD saturées et faible en sucre sur la survie. Des souris C57BL mâles, ont reçu soit un régime contrôle, soit un régime HFD pendant une période de 27 mois. Suite au régime HFD, environ la moitié des souris sont résistantes au régime HF et ne présentent pas d'augmentation de poids. Ainsi les auteurs ont étudié à la fois les souris nourries avec le régime HF qui sont devenues obèses (DIO), les souris avec le régime HF résistantes au régime (DR) et les souris ayant reçu le régime contrôle (CD). A partir de 15 mois de régime, les courbes de survies ne sont plus les mêmes. A la fin des 27 mois de régime, le taux de survie pour les souris DIO et DR est de moins de 50% tandis que pour les souris CD, il est de 75%. Ainsi, un régime HFD conduit à une diminution de l'espérance de

vie même si les souris ayant reçu un régime HFD ne prennent pas toutes de poids. (Muller et al., 2013)

Les sujets âgés obèses sont également plus à risque de développer des maladies cardiovasculaires.

En 2006, McNeill a étudié, sur une population âgée, l'association entre le syndrome métabolique et les maladies cardiovasculaires. L'étude a été effectuée chez 3585 sujets provenant de l'étude « *Cardiovascular Health Study (CHS)* », âgés en moyenne de 72 ans. Les sujets ont été classés comme ayant ou non un syndrome métabolique selon les critères habituels et ont eu un suivi moyen de 11 ans. Les sujets présentant un syndrome métabolique présentent 20 à 30 % plus de risques de développer des maladies cardiovasculaires par rapport aux sujets ne présentant pas de syndrome métabolique. Les sujets âgés entre 65 et 74 ans et présentant un syndrome métabolique, sont 1.44 fois plus susceptibles de développer une maladie coronarienne.

Cette différence n'étant pas retrouvée dans le reste de la population. De plus, que ce soit chez les hommes ou les femmes, la présence d'au moins 4 composants du syndrome métabolique multiplie par 2.2 à 2.4 fois le risque de développer une maladie coronarienne. Parmi les composants du syndrome métabolique, la PA joue un rôle prépondérant dans le risque d'avoir une maladie coronarienne. (McNeill et al., 2006)

L'obésité va également avoir un effet au niveau du vieillissement cérébral.

Une étude récente a mis en évidence que l'obésité pourrait augmenter le risque de neurodégénérescence. Pour cela, l'équipe a étudié l'impact de l'obésité sur la structure cérébrale durant la durée de vie humaine. Une analyse transversale d'images de cerveau obtenue par IRM chez des sujets adultes sains a été effectuée. La cohorte d'une moyenne d'âge de 54 ans, était composée de : 246 sujets contrôles maigres (IMC entre 18.5 et 25), 150 sujets en surpoids (IMC entre 25 et 30) et 77 sujets obèses (IMC supérieur à 30). Les sujets en surpoids ou obèses, principalement en milieu de vie, présentent une diminution plus importante du volume de matière blanche. En effet, à 50 ans, un sujet en surpoids ou obèse présente un volume de matière blanche comparable à un sujet mince à 60 ans. L'âge du cerveau d'une personne en surpoids ou obèse est fortement augmenté. Aucune modification au niveau de la matière grise n'a été mise en évidence (épaisseur et surface corticale). Ainsi, l'augmentation de l'adiposité présente un fort impact sur la structure cérébrale. (Ronan et al., 2016)

Une autre étude a examiné la relation possible entre l'obésité et les fonctions cognitives en fin de vie chez des personnes sans diagnostic de démence. La revue a porté sur 11 études ayant examinées soit l'influence de l'obésité en milieu de vie sur les fonctions cognitives en fin de vie, soit l'obésité et les fonctions cognitives en fin de vie. Ainsi cette étude a mis en évidence, qu'une obésité en milieu de vie était associée à une diminution des facultés cognitives, cette association étant moins présente en fin de vie. (Dahl & Hassing, 2013)

II. Vieillessement cardiovasculaire

a) Effet du vieillissement sur la structure et la fonction cardiaque

Le vieillissement va conduire à des effets néfastes au niveau du système cardiovasculaire et va conduire à une augmentation des maladies cardiovasculaires. En vieillissant les personnes vont être plus sujettes à développer une hypertension (hypertension définie comme une PAS supérieur à 140 mmHg et une PA diastolique supérieur à 90 mmHg). En effet, entre l'âge de 40 et 80 ans, la prévalence d'une hypertension va tripler. Cette augmentation de prévalence est également retrouvée pour les accidents vasculaires cérébraux et les infarctus du myocarde (Lakatta & Levy, 2003). Au sein de notre laboratoire, une réflexion du point de vue clinique sur la prise en charge de l'hypertension artérielle du patient très âgé a été mise en place et a mis l'accent sur l'importance de la révision thérapeutique de l'ordonnance de l'hypertendu âgé (Benetos et al., 2015; Joly et al., 2015). Cette classe d'âge peut présenter un état de fragilité et de vulnérabilité pour lesquels une évaluation gériatrique est nécessaire avant une prise en charge thérapeutique.

Le vieillissement cardiovasculaire va être caractérisé par des modifications à la fois structurales et fonctionnelles. (Strait & Lakatta, 2012)

Au niveau structural, le vieillissement va conduire à une augmentation de l'épaisseur de la paroi du VG à la fois chez les hommes et chez les femmes (Gerstenblith et al., 1977). Des études récentes ont montré que chez des patients âgés sains, la masse du VG n'augmentait pas (Khoury et al., 2005). Cette observation a été très controversée. En effet, plusieurs études basées sur des autopsies ou des analyses échocardiographiques avaient mis en évidence une augmentation de la masse cardiaque avec le vieillissement (Linzbach & Akuamo-Boateng, 1973). Bien que la masse du ventricule ne soit pas modifiée, le vieillissement va également conduire à des modifications au niveau des cellules contractiles le constituant : les cardiomyocytes. Effectivement, le processus de vieillissement va être caractérisé par une perte importante de myocytes, une augmentation progressive de leur taille et de leur volume, à la fois au niveau du VG et du ventricule droit (Olivetti et al., 1991). Au sein du myocarde, le vieillissement va également conduire à une augmentation de la quantité et des propriétés physiques du collagène. (Lakatta & Levy, 2003)

Au niveau fonctionnel, le vieillissement va conduire à des dysfonctions au niveau de la phase de diastole (remplissage du VG). La vitesse de remplissage du VG en début de diastole (pic

E) va diminuer progressivement au cours du temps tandis que la vitesse en fin de diastole va elle augmenter (pic A). L'âge est un fort déterminant du ratio E/A. Une étude visant à déterminer les effets du vieillissement sur le remplissage du ventricule à gauche a mis en évidence une diminution du ratio E/A qui serait principalement due à une augmentation du temps de relaxation isovolumétrique (Bryg et al., 1987). Au cours du vieillissement, au repos, l'index de volume en fin de diastole, correspondant au volume en fin diastole normalisé par rapport à la surface du corps, n'est pas altéré. Cependant, au cours d'un effort, celui-ci augmente (Fleg et al., 1995).

La fonction systolique, principalement évaluée par la fraction d'éjection, diminue au cours du temps durant un effort physique. (North & Sinclair, 2012)

La fréquence cardiaque (FC) est également affectée au cours du vieillissement. La variabilité de la FC, diminue progressivement avec l'âge. En position couchée et au repos, la FC n'est pas modifiée chez les personnes âgées. Tandis que lors d'un effort, la FC maximale est diminuée (Antelmi et al., 2004). Le débit cardiaque est également affecté par le vieillissement. (Fleg et al., 1995)

Afin de contrer ces modifications fonctionnelles dues à l'âge, le myocarde va devoir compenser en augmentant la masse du muscle ce qui va conduire à une hypertrophie qui va être régulée par la présence de facteur de transcription (Akazawa & Komuro, 2003). Le développement des techniques non-invasives telle que l'échocardiographie va permettre de mesurer la taille du VG. Dans l'étude de Framingham, il a été montré que la prévalence d'une hypertrophie cardiaque augmente fortement au cours du vieillissement. Une corrélation positive a été retrouvée entre la présence d'une hypertrophie et l'augmentation à la fois de la PAS et de l'IMC (Levy et al., 1988). De plus, la présence d'une hypertrophie est associée à une augmentation du risque de développer une maladie cardiovasculaire et augmente également l'incidence de mourir d'une maladie cardiovasculaire ou de toutes autres causes (Levy et al., 1990).

b) Effet du vieillissement sur la structure de la paroi artérielle : la rigidité artérielle

La paroi artérielle est composée de trois tuniques (Figure 4) (Stevens & Lowe, 1997). De l'intérieur vers l'extérieur on trouve :

- L'intima, qui est la tunique la plus fine. Elle est constituée par une couche monocellulaire de cellules endothéliales reposant sur une lame basale et de la lame limitante élastique interne séparant le média de l'intima.
- La média, délimité par les lames limitantes élastiques interne et externe. Elle est principalement composée de cellules musculaires lisses organisées de façon concentrique, entre les fibres d'élastine et de collagène, formant ainsi des unités lamellaires. Sa composition lui confère des propriétés viscoélastiques.
- L'adventice, constitué d'un tissu conjonctif riche en fibres d'élastine et de collagène et reposant sur une limitante élastique externe. L'apport nutritionnel de la paroi artérielle se fait par des *vasa vasorum*.

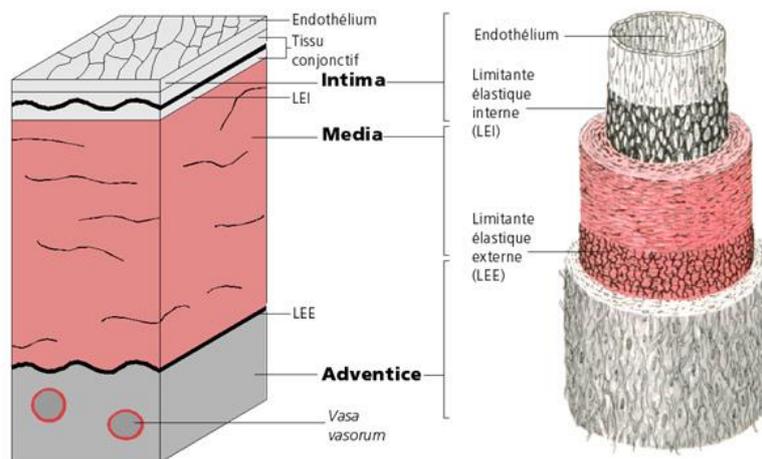


Figure 4 : Représentation des différentes composantes d'une artère.

Tirée de Stevens & Lowe, 1997

Au cours du vieillissement artériel, on peut observer des modifications structurales de la paroi. Notamment un épaississement de la paroi et plus particulièrement de l'intima. Ainsi, des mesures ont montré que l'épaisseur intima-média était multipliée par 2 ou 3 entre 20 et

90 ans (Belmin & Tedgui, 1993). On observe également une fragmentation et une altération du réseau de fibres élastiques qui vont conduire à une distension de la paroi provoquant une augmentation de la présence de fibres de collagène rigides. La dilatation artérielle se caractérise par une augmentation importante des diamètres internes et externes des gros troncs artériels (O'Rourke, 1990). L'élasticité de la paroi va également être modifiée. Celle-ci est liée à la présence ou non de cross-links orchestrés par des amines oxydase et notamment la lysyl-oxydase et la semicarbazide-sensible amine oxydase (SSAO). Ainsi, si le nombre de cross-links augmente, on aura une augmentation de la rigidité artérielle. (Lacolley et al., 2007)

Le développement de la rigidité des gros troncs artériels, manifestation principale du vieillissement artériel, est considéré comme un facteur de risque indépendant de morbidité et de mortalité.

En effet, Laurent et son équipe ont étudié les relations possibles entre la rigidité artérielle, et la mortalité globale et la mortalité cardiovasculaires, chez des patients présentant une hypertension. L'étude a été effectuée sur une cohorte de 1980 sujets avec une moyenne d'âge de 50 ± 13 ans à l'entrée de l'étude et ayant subi une évaluation de la rigidité artérielle par mesure de la vitesse d'onde de pouls (VOP) traduisant la rigidité carotide-fémorale. Les sujets ont été suivis durant une durée moyenne de 9 ans. Durant la période de suivi, 107 sujets sont décédés dont 46 de décès d'origine cardiovasculaire. La VOP était associée à l'ensemble des causes de mortalité mais également à la mortalité cardiovasculaire. (Laurent et al., 2001)

Un peu plus tard, Laurent et al. ont également mis en évidence, dans une étude longitudinale rassemblant 1715 sujets, que la rigidité artérielle était un prédicteur indépendant des accidents vasculaires cérébraux (AVC) chez les sujets hypertendus. (Laurent et al., 2003)

Mise à part l'âge, plusieurs autres facteurs jouent un rôle dans l'apparition des modifications liées au vieillissement. En effet, les sujets diabétiques (Cruickshank, 2002; Henry, 2003) et porteurs d'un syndrome métabolique (Safar et al., 2006) présentent une rigidité artérielle augmentée. De plus, l'évolution de la rigidité artérielle est deux fois plus importante chez des sujets hypertendus que chez des sujets normotendus (Benetos, 2002). Une étude effectuée sur des sujets âgés, a évalué la relation entre rigidité artérielle et la graisse corporelle. Il a été montré que la rigidité artérielle, évaluée par la VOP, était positivement

associée : au poids, à la circonférence abdominale, à la graisse sous-cutanée abdominale et plus fortement à la graisse viscérale abdominale (Sutton-Tyrrell et al., 2001).

Du fait de l'augmentation de la rigidité artérielle, on observe également une augmentation de la vitesse de l'onde de pouls et de la pression pulsée. En effet, une étude longitudinale nommée PARTAGE ayant pour but de déterminer la valeur prédictive de la PA et de la rigidité artérielle pour la mortalité globale, les événements cardiovasculaires majeurs et le déclin cognitif dans une large population de patients institutionnalisés âgés de 80 ans et plus, a montré, qu'avec l'âge on remarque une augmentation significative de la pression pulsée mais également de la VOP aortique (Benetos et al., 2010)

Une autre étude visant à établir des valeurs normales et de références de la VOP carotido-fémorale, a montré que la VOP augmentait avec l'âge, avec une moyenne de VOP de 6.2 m.s^{-1} chez les personnes ayant un âge inférieur à 30 ans et une moyenne de 10.3 m.s^{-1} pour les personnes âgées de 60 à 69 ans. De plus, cette augmentation était d'autant plus élevée si le sujet présentait un niveau d'hypertension élevé. (Reference Values for Arterial Stiffness' Collaboration, 2010)

Ainsi en 2013, la société européenne d'hypertension artérielle et la société européenne de cardiologie ont défini comme seuil élevé de développer des maladies cardiovasculaires, une valeur de VOP supérieure à 10 m.s^{-1} . (Mancia et al., 2013)

La rigidité et le vieillissement vont conduire à une augmentation de la PAS et une diminution de la pression diastolique, qui vont contribuer par la suite à un risque accru de mortalité cardiovasculaire. (Ungvari et al., 2010)

i) Evaluation de la rigidité artérielle

La méthode principalement utilisée pour l'évaluation de la rigidité artérielle est la mesure de la vitesse de l'onde de pouls ou VOP. Un consensus établi en 2006, a défini que le gold standard pour la mesure de la rigidité artérielle est la mesure au niveau carotido-fémoral. Il s'agit d'une mesure simple et reproductible (Laurent et al., 2006). De plus, elle est prédictive d'événements cardiovasculaires et ce dans des études épidémiologiques (Laurent, Mousseaux, et Boutouyrie 2013; Salvi et al. 2008). Depuis 2007, la Société Française

d'Hypertension Artérielle indique que cette mesure devrait être réalisée chez le sujet hypertendu afin de détecter une atteinte des organes cibles.

La VOP carotide fémorale est définie comme le temps mis par l'onde de pouls pour se propager de la carotide à l'artère fémorale.

La méthode utilisée pour la mesurer est la méthode « *foot-to-foot* » (Figure 5), qui consiste à calculer le Δt entre les pieds des ondes de pression sur 2 sites artériels distants de ΔL . Ainsi la VOP est égale à : $VOP = \Delta L / \Delta t$.

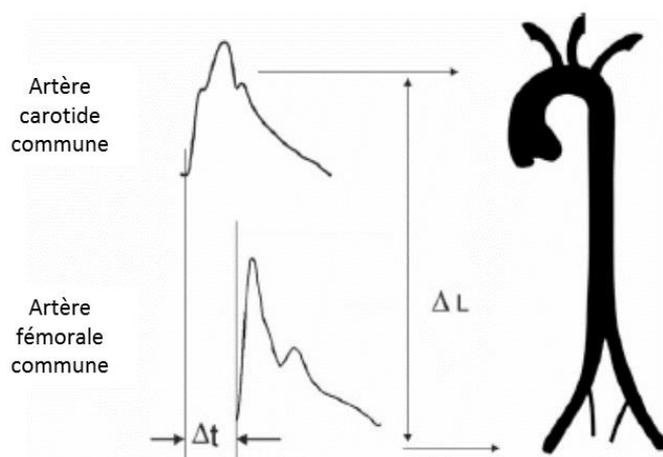


Figure 5 : Mesure de la VOP carotido-fémorale en utilisant la méthode « foot to foot ».

Adaptée de Laurent et al., 2006

La VOP peut également être évaluée en utilisant des capteurs de pression qui peuvent mesurer simultanément les deux ondes.

On peut citer comme exemple : le système Complior® utilisant des mécano-transducteurs directement appliqués sur la peau et où le temps de transit est déterminé par un algorithme de corrélation entre chaque ondes de pressions qui sont enregistrées simultanément aux deux sites ; ou encore le système SphygmoCor® qui enregistre les ondes de pressions successivement et où le temps de transit sera évalué en utilisant l'enregistrement simultané de l'échocardiogramme et correspondra à la différence entre le temps du pic R de l'ECG (électrocardiogramme) et l'onde de pression au niveau distal et le temps entre le pic R de l'ECG et de l'onde de pression au niveau Proximal. (Salvi et al., 2008; Laurent et al., 2013)

Un autre exemple d'appareil permettant d'évaluer la rigidité artérielle de manière non invasive est le Pulsepen®. Il est composé de deux unités : d'une unité tonomètre (Pulspen®)

utilisant la méthode de tonométrie d'aplanissement qui est reliée à une unité d'ECG). Du fait de sa simplicité de réalisation, cette technique peut être utilisée au niveau de la carotide, de l'artère humérale, radiale ou encore fémorale. Les signaux enregistrés par la sonde de pression et l'ECG sont transmis à un ordinateur où ils vont être traités. Une étude de validation réalisée en 2004 a montré que le Pulspen®, associé à une unité d'échocardiographie est un appareil efficace pour évaluer de manière non invasive la pression centrale, l'index d'augmentation et la VOP. (Salvi et al., 2004)

ii) Autre mesure de la rigidité artérielle

La rigidité artérielle peut également être mesurée localement et notamment au niveau de la carotide. La détermination des paramètres de rigidité va être possible de par l'utilisation d'appareils à ultrasons qui vont nous permettre de déterminer le changement de diamètre durant le cycle cardiaque. La rigidité artérielle locale va ainsi pouvoir être évaluée directement au moment de l'examen et ce de manière non-invasive.

Différents paramètres, basés sur les changements de diamètre artériel, vont pouvoir être ainsi calculés :

- « Stroke change in lumen area » définie comme (Figure 6) :

$$\Delta A = \pi \frac{\text{Diamètre systole}^2 - \text{Diamètre diastole}^2}{4} \text{ (mm}^2\text{)}$$

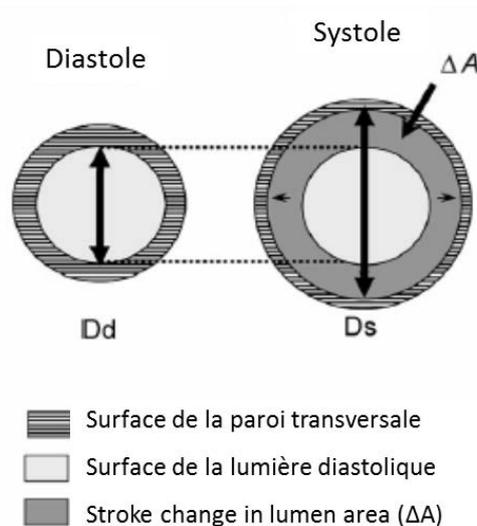


Figure 6 : Représentation de stroke change (ΔA) in lumen cross-sectional area.

Dd : diamètre en diastole ; Ds : diamètre en systole. Adaptée de Laurent et al., 2006

- « *Carotid arterial strain* » (CAS) définie comme :

$$\text{CAS} = \frac{D_{\text{systole}} - D_{\text{diastole}}}{D_{\text{diastole}}} (\%)$$

La CAS est inversement proportionnelle à la rigidité artérielle, ainsi des valeurs élevées de CAS correspondent à une rigidité plus faible. Dans une étude effectuée sur plus de 10000 personnes, les sujets ayant eu un accident vasculaire cérébral présentaient un CAS faible comparé aux personnes n'ayant pas eu d'accident vasculaire cérébral. (Yang et al., 2012)

En 2006, un consensus d'experts a statué sur la mesure de la rigidité artérielle locale. Il en ressort que : (1) les systèmes d'échocardiographie sont des appareils offrant des conditions optimales pour la détermination de la rigidité locale, (2) la rigidité locale doit être déterminée à partir de mesures de changement de diamètre et de pression pulsée locale, (3) la détermination à la fois de la rigidité et de l'épaisseur de la carotide sont optimales, (4) la mesure de la rigidité locale est indiquée dans les analyses mécanistiques. (Laurent et al., 2006)

c) Vieillessement et inflammation

Le vieillissement va conduire à des modifications dans de nombreux tissus qui vont entraîner un état inflammatoire chronique. Cet état inflammatoire va s'établir lorsqu'un déséquilibre entre les composés pro et anti-inflammatoires va être présent. (De la Fuente & Miquel, 2009).

La présence d'une inflammation va être caractérisée par une augmentation du taux de cytokines pro-inflammatoires circulantes qui va être associée à une fragilité plus importante mais également à un développement plus important de maladies cardiovasculaires.

Les marqueurs inflammatoires vont être des facteurs prédictifs de maladies cardiovasculaires chez les personnes âgées.

Cela a notamment été mis en évidence dans une étude de Vasan et al. en 2003 visant à étudier les relations entre les taux circulants de marqueurs pro-inflammatoires (IL-6 et CRP) et l'incidence d'une insuffisance cardiaque congestive, chez des sujets âgés de l'étude Framingham ne présentant pas d'infarctus du myocarde ou d'insuffisance cardiaque. Durant le suivi qui a duré en moyenne 5 ans, 56 sujets sur 732 ont développé une insuffisance

cardiaque congestive. L'augmentation de la concentration en IL-6 ou CRP augmente considérablement le risque de développer une insuffisance cardiaque. Le risque est encore plus augmenté lorsque les sujets présentent une augmentation de ces deux marqueurs. (Vasan et al., 2003)

Une étude a également montré que ces 2 marqueurs inflammatoires étaient associés à une augmentation du risque d'une maladie coronarienne. Cette étude a été effectuée sur plus de 2000 adultes âgés de 70 à 79 ans au début de l'étude. Après un suivi de 8 ans les auteurs ont évalué l'apparition d'infarctus du myocarde ou de décès dus à une maladie coronarienne. Ainsi, les sujets ayant des taux élevés d'IL-6, TNF α et de CRP présentaient des risques plus importants de développer une maladie coronarienne. (Rodondi et al., 2010)

Matsubara (2011), a étudié la signification clinique du taux plasmatique de pentraxine 3 (PTX3), un nouveau bio marqueur de l'inflammation de la famille des pentraxines, chez des patients âgés de 66 à 71 ans, atteints d'insuffisance cardiaque avec une fraction d'éjection normale (HFNEF) mais également la corrélation entre des bio marqueurs inflammatoires et la dysfonction diastolique du ventricule gauche (LVDD) chez des patients ne présentant pas d'insuffisance cardiaque. 181 patients présentant une insuffisance cardiaque ont été étudiés. Parmi eux, 152 ont été retenus et divisés en 2 groupes : les sujets présentant une insuffisance cardiaque avec une fraction d'éjection normale (82 HFNEF) et les sujets présentant une insuffisance cardiaque avec une fraction d'éjection réduite (70 HFREF). Les taux de hsCRP, PTX3, TNF- α , IL-6 et de BNP ont été mesurés. Les patients présentant une insuffisance cardiaque, avec une fraction d'éjection normale ou non, ont un taux plus élevé de PTX3, TNF- α , IL-6 et BNP. De plus, les patients présentant un taux élevé de PTX3 ont : 1,49 fois plus de risque de présenter une insuffisance cardiaque avec une fraction d'éjection du VG normale et 1,23 fois plus de risque de présenter une dysfonction du VG. Des taux élevés de PTX3 sont retrouvés chez les patients HFNEF par rapport aux patients ne présentant pas d'insuffisance cardiaque. De plus les taux de PTX3 sont en corrélation avec la dysfonction diastolique du VG mais également en corrélation avec la présence de HFNEF chez les patients avec une fraction d'éjection normale et chez les patients avec une dysfonction diastolique avec une fraction d'éjection normale. Ainsi, la PTX3 peut bien être considérée comme un marqueur de l'inflammation en corrélation avec la présence d'une dysfonction diastolique et d'une insuffisance cardiaque avec une fraction d'éjection normale. (Matsubara et al., 2011)

Les marqueurs inflammatoires vont également être impliqués dans la géométrie du ventricule et la fonction diastolique chez les personnes âgées.

Masiha et son équipe ont effectué une étude chez 1060 hommes et femmes âgés d'environ 70 ans de l'étude PIVUS (« *Prospective Study of the Vasculature in Uppsala Seniors* »). Des échocardiographies ont été effectuées afin de déterminer les paramètres morphologiques du VG (épaisseur de la paroi et indice de masse). De part ces 2 mesures, 4 groupes de patients ont été définis : normal, remodelage concentrique, hypertrophie excentrique et hypertrophie concentrique du VG. La fonction diastolique a été évalué par la détermination du rapport E/A. En plus de ces explorations morphologiques, les marqueurs de l'inflammation ont été dosés. Il a été ainsi mis en évidence que, chez les sujets présentant une hypertrophie toute classe confondue du VG, des taux plus élevés de hsCRP et de E-selectine étaient observés. Des taux élevés de ICAM-1 (« *inter-cellular adhesion molecule 1* ») et de VCAM-1 (« *vascular cell adhesion protein 1* ») sont retrouvés mais uniquement dans le groupe de sujet présentant une hypertrophie concentrique du VG. Aucune modification des taux d'IL-6, TNF- α , MCP-1 et leucocytes n'a été observée entre les groupes. Les taux d'I-selectine et de hsCRP sont indépendamment liés avec le rapport E/A. Le taux de hsCRP étant inversement lié au rapport E/A et le taux d'I-selectine positivement lié au rapport E/A. Ainsi, on peut dire que les taux d'E-selectine, ICAM-1, VCAM-1 et hsCRP sont élevés chez les sujets âgés présentant une géométrie du VG anormale et que les taux d'hsCRP et d'I-selectine sont en relation avec la fonction diastolique. (Masiha et al., 2012)

NFkB est un facteur de transcription impliqué dans la régulation de gènes contrôlant notamment l'inflammation. Son activation va conduire à une inflammation au niveau des vaisseaux et du myocarde durant le vieillissement. (Cevenini et al., 2013). Son activité va être régulé par un gène impliqué dans la longévité, SIRT1. (Salminen et al., 2008).

d) Tomographie par émission de positons cardiaque

La technique TEP au ^{18}F FDG est une technique de référence dans l'imagerie cardiaque car elle permet à la fois d'évaluer la viabilité du myocarde ainsi que les fonctions du VG par des techniques d'enregistrement d'électrocardiographie.

Une étude a eu pour objectif de valider les volumes en fin de systole et en fin de diastole ainsi que la fraction d'éjections évaluées par TEP chez des patients avec une maladie

coronarienne grave. Les différents paramètres ont été calculés en utilisant le logiciel QGS. Les sujets ont également eu une évaluation de ses paramètres par IRM cardiaque. Ainsi, une forte corrélation entre les résultats obtenus avec les deux techniques a été retrouvée pour les volumes en fin de diastole, fin de systole et la fraction d'éjection. (Schaefer et al., 2003). Un peu plus tard, une autre équipe a également mis en évidence cette corrélation. (Slart et al., 2004).

Il a été mis en évidence qu'une prémédication conduisait à une qualité d'images cardiaques obtenues par TEP de très bonne qualité. Une des prémédications utilisées est l'administration par voie orale d'acipimox un médicament hypolipémiant. Cette prémédication a été mise en place chez le rat et a conduit à une augmentation importante de l'absorption du glucose et du FDG au niveau cardiaque permettant ainsi une délimitation plus simple de la cavité du VG par le logiciel. (Poussier et al., 2010)

Une autre étude a montré qu'il était clairement possible de déterminer par la technique de TEP au FDG le remodelage cardiaque chez des modèles animaux. En effet, cela a été mis en évidence récemment dans un modèle de rat spontanément hypertendus et présentant une insuffisance cardiaque (SHHF ou « *Spontaneously hypertensive heart failure rats* »). La fraction d'éjection ainsi que les volumes ont été déterminés par un logiciel sur les images TEP-FDG chez des rats SHHF, SHR et contrôle âgés de 3 et 10 mois. Les différences au niveau des paramètres cardiaques sont apparues uniquement chez les rats âgés de 10 mois et sont caractérisées par une augmentation de la masse myocardique et de la fibrose associées à une diminution de la fraction d'éjection. (Maskali et al., 2014)

La technologie TEP va également permettre d'évaluer le métabolisme du glucose au niveau cardiaque en mesurant l'absorption du FDG.

Pour cela, le « *myocardial to blood activity ratio* » (M/B) est calculé (Nishikawa et al., 1996) et est égale à la formule suivante : $\frac{M_{My}}{M_{Bl}}$. M_{My} correspond à l'absorption du FDG au niveau de la paroi du myocarde tandis que M_{Bl} correspond à l'absorption du FDG au niveau de la cavité.

L'« *index of myocardial signal to noise ratio* » (S/N) est également évalué. Ce ratio est mesuré à partir d'une vue petit axe du VG en fin de diastole. Le ratio S/N est estimé avec la formule suivante : $\frac{(M_{My}-M_{No})}{\sqrt{[SD_{My}]^2+[SD_{No}]^2}}$. Comme précédemment, M_{My} correspond à l'absorption du FDG au niveau de la paroi du myocarde, M_{No} correspond au bruit de fond.

SD_{My} et SD_{No} correspondent aux écarts types des deux précédents paramètres (Marie et al., 2005).

e) Molécules impliquées dans la fibrose cardiaque et le vieillissement

i) Le collagène

Le collagène est une des protéines la plus abondante chez les mammifères et il est le principal composant de la matrice extracellulaire. Le collagène est une triple hélice représentant 3 chaînes α très riche en proline et en glycine, qui sont maintenues dans une conformation hélicoïdale par des liaisons hydrogènes. Les collagènes au niveau du cœur vont contribuer aux propriétés élastiques du myocarde. Le collagène de type 1 est le plus prédominant. Le collagène de type I-III va s'accumuler dans le cœur lorsque celui s'hypertrophie et conduire au développement de la fibrose. (Lacolley et al., 2007; Shoulders & Raines, 2009)

ii) MMP2

Les MMP ou « *Matrix metalloproteinases* » sont impliquées dans la dégradation de la matrice extracellulaire. MMP2 fait partie de la famille des gélatinases et est également appelé gélatinase A. Elle va jouer dans le remodelage cardiaque en digérant le collagène de type I, II et III (Visse, 2003). Cependant, MMP2 va également avoir d'autres effets au niveau du remodelage. En effet, MMP2, qui est exprimée au niveau des cardiomyocytes, voit son expression up-régulé en situation d'hypertrophie. Plusieurs études ont montré que MMP2 était directement impliqué dans le remodelage cardiaque. En effet, chez des souris KO pour MMP2, l'hypertrophie et la fibrose ont été totalement inhibées (Hayashidani et al., 2003; Matsusaka et al., 2006).

iii) Nppb

Nppb ou « *b-type natriuretic peptide* » est également appelé BNP ou « *brain natriuretic peptide* ». Il s'agit d'une hormone natriurétique qui a montré être produite au niveau du cœur. En condition de stress, comme par exemple lors d'une insuffisance cardiaque ou d'une hypertrophie, les cardiomyocytes vont produire du Nppb, ainsi le taux plasmatique de Nppb peut être considéré comme un marqueur de diagnostic en clinique (Battistoni et al., 2012).

De plus, le gène *Nppb* est exprimé au niveau cardiaque chez les mammifères et son expression va être up-régulée en présence d'une hypertrophie ou d'une insuffisance cardiaque (Sergeeva & Christoffels, 2013).

iv) Périostine

La périostine est une protéine de la matrice cellulaire de 90 kDa. Il a été mis en évidence qu'elle pouvait être un régulateur de l'hypertrophie cardiaque. En effet, Oka et ses collaborateurs ont montré que chez des souris dépourvues pour le gène de la périostine, la fibrose et l'hypertrophie induite par une surcharge de pression est moindre (Oka et al., 2007). Plus récemment, Zhao a confirmé l'implication de la périostine dans le remodelage cardiaque chez l'Homme. L'analyse de tissus provenant de cœur de patients insuffisant cardiaque ayant subi une greffe cardiaque, montre une augmentation de l'expression de la périostine. De plus l'expression protéique de la périostine est positivement corrélée avec la fibrose myocardique et le diamètre du VG en diastole. (Zhao et al., 2014)

v) GDF11

GDF11 ou « *Growth differentiation factor 11* » est également connu sous le nom de BMP11 (« *Bone morphogenetic protein 11* »). Il fait partie de la famille des TGF β et joue un rôle important dans le développement des mammifères et dans le développement de différents organes comme le rein ou l'estomac. Dans la famille des TGF β on retrouve également la myostatine nommée GDF8. Ils vont être synthétisés sous forme de précurseurs. Les ligands matures sont des dimères reliés par un pont disulfure et se trouvent sous forme d'hélices. De par leur surface, ils vont pouvoir se fixer sur des récepteurs de type I ou de type II ce qui va initier deux différentes voies de signalisation. Une des principales est la voie dite canonique impliquant les SMAD. Le complexe formé lors de cette voie va s'accumuler au niveau du noyau et va pouvoir ainsi réguler l'expression de gènes. (Walker et al., 2016)

Zhou et al ont montré que GDF11 était présente dans la circulation sanguine de différentes souches de souris à des concentrations variables et que son niveau était en corrélation avec l'espérance de vie (Zhou et al., 2016). Diverses études ont montré que GDF11 peut contrer l'hypertrophie cardiaque liée à l'âge chez les souris et que son taux circulant diminue avec l'âge (Loffredo et al., 2013; Oshrovich, 2013; Poggioli et al., 2016). Cependant, certaines

études ont montré des effets opposés. En effet, récemment, Schafer et al, ont mis en évidence chez l'homme, que le taux circulant de GDF11 ne diminue pas avec le vieillissement. En outre, ils ont également montré que GDF11 peut être considérée comme un facteur de risque cardio-vasculaire. Un niveau élevé de GDF11 chez les personnes âgées souffrant de maladies cardio-vasculaires a été corrélée avec une prévalence plus élevée de la fragilité et d'autres comorbidités. Ainsi GDF11 chez l'Homme pourrait être considéré comme un marqueur de fragilité et d'exposition aux maladies cardiovasculaires. (Schafer et al., 2016; Glass, 2016)

TRAVAUX

I. HYPOTHESES ET OBJECTIFS DE TRAVAIL

Au vu des différentes données de la littérature, il semble que l'obésité associée au vieillissement puisse accélérer le processus global du vieillissement. Il semble donc intéressant de se concentrer sur les effets possibles d'un régime alimentaire riche en graisses sur les paramètres cardiaques et métaboliques afin de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents d'un vieillissement cardiaque accéléré.

Ce travail a pour objectif de tester l'hypothèse qu'un régime riche en graisses et poursuivi sur une longue durée peut altérer le métabolisme et accélérer le vieillissement du cœur.

Un des points forts de ce travail de thèse est la durée du régime. En effet le modèle murin que nous avons choisi a reçu durant un an un régime soit un régime riche en graisses soit un régime normal. De plus, ces régimes ont démarré dès le plus jeune âge chez les animaux, puisqu'ils ont commencé à l'âge de 5 semaines. Nous avons ensuite effectué un suivi-longitudinal avec un instantané à deux temps de régime, 6 et 12 mois. Durant l'étude, les souris sont leurs propres témoins à 6 et à 12 mois.

Nous avons ainsi pu évaluer l'impact d'un régime riche en graisses et du vieillissement, sur les paramètres métaboliques mais également la structure et la fonction du tissu adipeux (tissu adipeux brun et tissu adipeux blanc), la morphologie et la fonction cardiaque, ainsi que l'expression de gènes impliqués dans l'inflammation, la fibrose cardiaque et le vieillissement.

II. MATERIEL ET METHODES

a) Animaux et régimes

Dans cette étude, des souris mâles âgées de 4 semaines et provenant de Charles River Laboratories *France* ont été utilisées.

Les animaux ont été hébergés dans l'animalerie de l'unité INSERM 954 « Nutrition - génétique et exposition aux risques environnementaux » sous la direction de Mr Jean-Louis GUEANT, selon les conditions d'élevage en vigueur (température 22-24°C, humidité 55-60%, cycles jour-nuit de 12h).

Après une semaine d'acclimatation, les animaux sont divisés en deux groupes : un groupe de 40 souris recevant un régime riche en graisses (« *High Fat Diet* », HFD) et un groupe de 40 souris recevant un régime contrôle (« *Standard Diet* », SD). Le régime HFD délivre 60 % kcal provenant des graisses, 20 % kcal provenant des protéines et 20 % kcal provenant des glucides (824054, DIETEX, France). Tandis que le régime SD délivre 10 % kcal provenant des graisses, 20 % kcal provenant des protéines et 70 % kcal provenant des glucides (824050, DIETEX, France). Les régimes ont été donnés aux animaux durant une période de 1 an.

Toutes les procédures ont été approuvées par le Comité d'Ethique Lorraine en Matière d'Expérimentation Animale (CELMEA) et sont en accord avec le Décret n°2013-118 du 1^{er} février 2013 relatif à la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques. De plus, notre laboratoire possède l'agrément d'établissement utilisateur (N° A 54-547-26 délivré le 26.02.2015).

b) Mesure de la pression artérielle chez l'animal éveillé

Les mesures hémodynamiques réalisées *in vivo* chez l'animal conscient sont effectuées par pléthysmographie. Cette méthode permet d'étudier les variations du volume sanguin dans un organe en utilisant des techniques de mesure de déplacement de volume.

Les souris sont placées dans une boîte de contention sur une plateforme chauffante (Hatteras Instruments, Blood Pressure Analysis System, model SC-1000), afin de s'assurer de la bonne dilatation des artères périphériques. La pression est mesurée sur l'artère caudale : la queue de l'animal est passée à travers un ballonnet qui comprime l'artère caudale lorsque

la pression dans ce ballonnet augmente. Lorsque la pression du ballonnet est égale à la pression systolique de l'artère, celle-ci est écrasée empêchant la circulation du sang. L'arrêt de la circulation du sang dans l'artère caudale est détecté par un capteur photoélectrique et est interprété par l'enregistreur comme étant la valeur de la pression systolique. (Figure 7)

Afin d'obtenir des signaux reproductibles, les animaux sont entraînés pendant une semaine avant les mesures de PA afin d'éviter les éventuelles modifications des paramètres physiologiques induits par le stress de la boîte de contention. Seules les mesures obtenues après cette semaine d'entraînement sont prises en compte pour les calculs déterminant la PA.

Les mesures de PAS et de FC sont effectuées deux fois par mois durant la totalité de l'étude chez les souris ayant reçu un régime HFD et un régime SD.

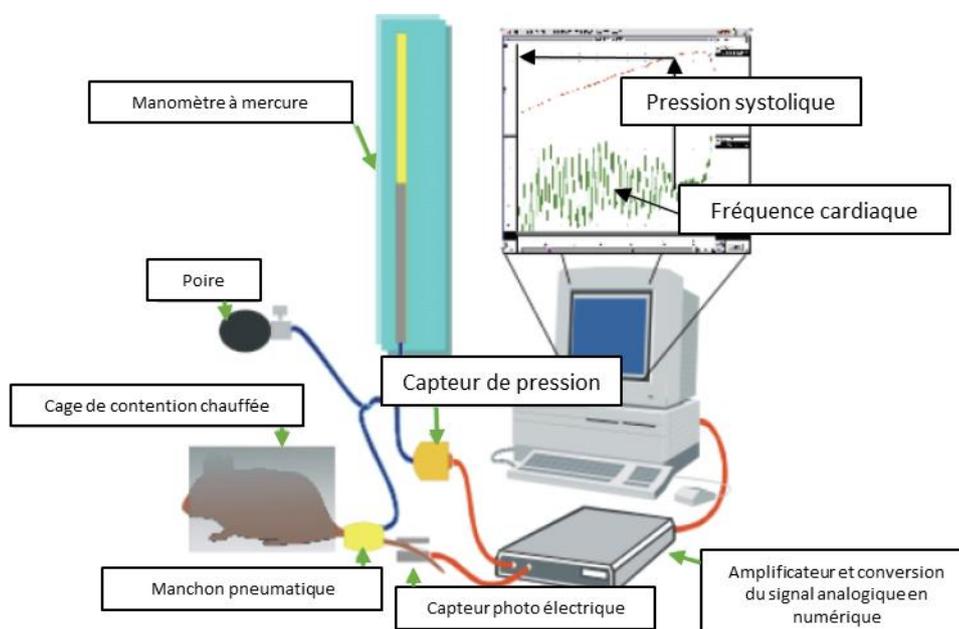


Figure 7 : Schéma de la technique « tail-cuff » pour la mesure de la pression artérielle.

Tiré de Sloboda, 2011

c) Prélèvements sanguins et test biochimiques

Les souris sont mises à jeun la veille de la prise de sang. Les animaux sont anesthésiés avec de l'isoflurane (3%, débit d'oxygène 1,5L) et 350 μ L a été prélevé au niveau mandibulaire. Le sang est placé dans des tubes contenant de l'EDTA (« *Ethylenediaminetetraacetic acid* ») puis ils sont centrifugés à 3000 g pendant 10 min à 4°C pour récupérer le plasma. Le plasma est par la suite aliquoté et stocké à -80°C. La

glycémie est mesurée à l'aide d'un glucomètre (*OneTouch VerioPro+*, LIFESCAN). Les taux plasmatiques de triglycérides et de cholestérol total sont mesurés par une méthode enzymatique (Triglycerid enz PAP150 et Cholesterol RTU, BIOMERIEUX). Les taux plasmatiques d'insuline et des adipokines sont mesurés par des kits ELISA (« *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay* ») (Insulin Mouse Assay Kit et Adiponectin Mousse Assay Kit, Eurobio ; Leptin Mouse ELISA Kit, ABCAM). Les prélèvements et test biologiques ont été réalisés après 6 et 12 mois de régime chez les souris ayant reçu un régime HFD et un régime SD.

d) Test de tolérance au glucose

Un test de tolérance au glucose est effectué après 6 et 12 mois de régime chez les souris ayant reçu un régime HFD et un régime SD. Les souris sont mises à jeun 7,5 heures et reçoivent une injection intra péritonéale d'une solution de glucose 40% (1 mg de glucose / g poids de souris). Les concentrations de glucose sanguin sont mesurées au moment de l'injection ainsi que 15, 30, 60, 90 et 120 min après l'injection de glucose, au niveau de la veine caudale de l'animal par un glucomètre (*OneTouch VerioPro+*, LIFESCAN). Les aires sous la courbe sont calculées.

e) Echocardiographie

Des échocardiographies sont effectuées à l'aide d'un échographe à haute résolution pour petit animal, le Vevo 770[®] (VisualSonics), équipé d'une sonde de 30 MHz afin de déterminer les paramètres morphologiques et fonctionnel cardiaque. Les échocardiographies sont effectuées après 6 et 12 mois de régime chez les souris ayant reçu un régime HFD et un régime SD.

Les souris sont anesthésiées dans une boîte à induction avec de l'isoflurane (3%, débit d'oxygène 1,5L) puis placées en décubitus dorsal sur une plaque chauffante (37 ° C). L'anesthésie est maintenue durant la totalité de l'examen avec un masque (2%, débit d'oxygène 1,5L). La température de l'animal est contrôlée par une sonde rectale et l'électrocardiogramme est enregistré avec des capteurs placés au niveau de la plaque chauffante.

Le septum inter ventriculaire (IVS « *interventricular septum* »), le diamètre interne du VG (LVID « *left ventricular internal diameter* ») et la paroi postérieure du VG (LVPW « *left ventricular posterior wall* ») sont mesurés en mode M en vue parasternale (Figure 8). Les fractions d'éjection et de raccourcissement ont ainsi pu être calculées.

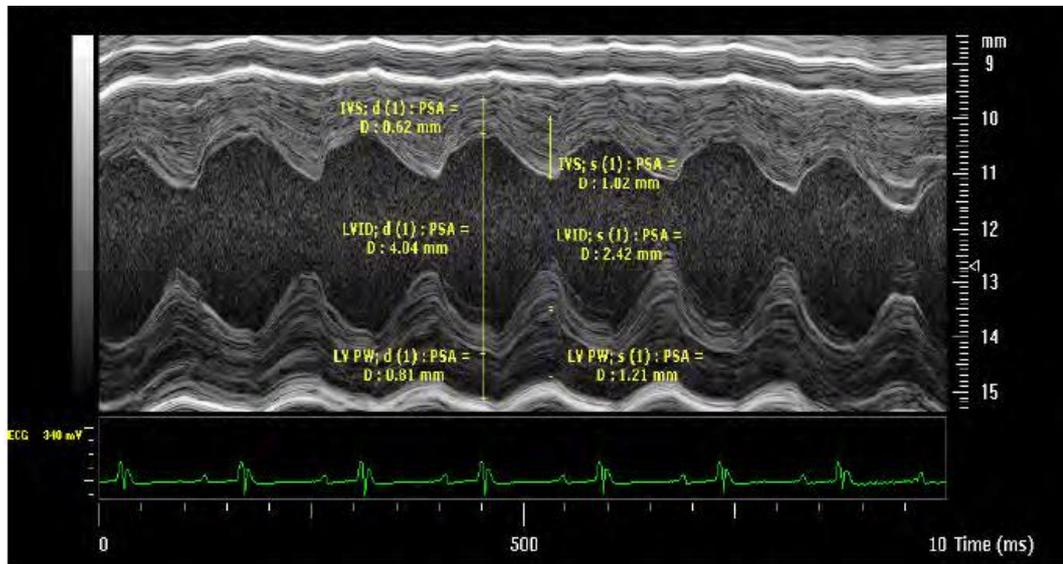


Figure 8 : Exemple de vue parasternale obtenue en mode M pour la mesure des paramètres morphologiques du ventricule gauche.

IVS : « *interventricular septum* » septum interventriculaire ; LVID : « *left ventricular internal diameter* » diamètre interne du ventricule gauche ; LVPW : « *left ventricular posterior wall* » paroi postérieure du ventricule gauche. Les mesures sont effectuées en diastole (d) et en systole (s). Tirée de Ram et al., 2011

La fonction diastolique est évaluée en mode Doppler pulsé au niveau de la vue apicale 4 chambres. Le temps de relaxation isovolumétrique (IVRT, « *isovolumetric relaxation time* »), le temps de décélération (DT, « *deceleration time* »), la vitesse de l'onde E (proto-diastolique) et de l'onde A (télé-diastolique) et le rapport E/A ont été déterminés. (Figure 9)

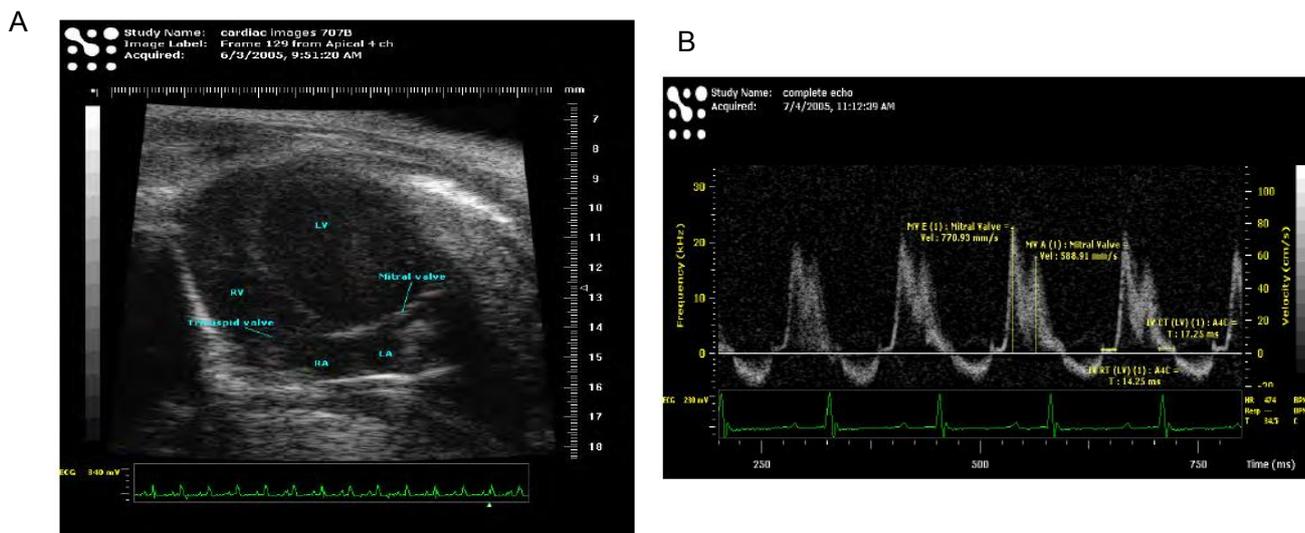


Figure 9 : Exemple de vue 4 chambres obtenues en mode B et image de Doppler pulsé pour la détermination des paramètres de fonction diastolique.

(A) Mode B ; (B) Doppler pulsé. LV : « left ventricle » ventricule gauche ; RV : « right ventricle » ventricule droit ; RA : « right atrium » oreillette droite ; LA : « left atrium » oreillette gauche ; IVRT « isovolumetric relaxation time » temps de relaxation isovolumétrique ; IVCT : « isovolumetric contraction time » temps de contraction isovolumétrique. Tirée de Ram et al., 2011

Nous avons également évalué deux paramètres de rigidité locale au niveau de la carotide : le « Stroke change in lumen area » (ΔA) et le « Carotid arterial strain » (CSA).

$$\Delta A = \pi \frac{D_{systole}^2 - D_{diastole}^2}{4} \text{ (mm}^2\text{)} \text{ et } CSA = \frac{D_{systole} - D_{diastole}}{D_{diastole}} \text{ (\%)}$$

Avec D correspondant au diamètre interne de la carotide en systole et en diastole.

f) Imagerie par résonance magnétique

Les animaux de chaque groupe ont subi un examen d'IRM après 6 et 12 mois de régime afin d'évaluer leur graisse et le volume de tissus adipeux brun.

Un imageur à résonance magnétique avec un champ magnétique de 2.34 Teslas et une résolution maximale de 50 microns est utilisé. Une série de 48 coupes de 1 mm est faite de la base du cou de la souris jusqu'en dessous des reins.

La graisse est évaluée par la détermination du rapport eau graisse qui correspond à la formule suivante : $\frac{\text{Air du pic de l'eau}}{\text{Air du pic de graisse}}$, calculé par la technique de spectroscopie des protons.

(Figure 10)

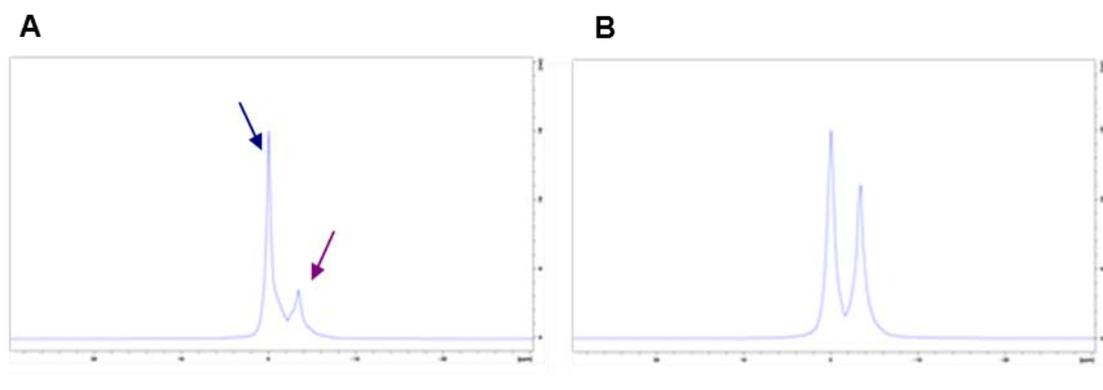


Figure 10 : Exemples de spectres obtenus par résonance magnétique chez des souris SD et HFD après 12 mois de régime.

Spectre IRM d'une souris sous régime SD (A) et d'une souris HFD (B). La flèche bleue correspond au pic de l'eau et la flèche violette correspond au pic de graisse.

Le volume de TAB au niveau interscapulaire, est également évalué par IRM à partir des images de coupes transversales des souris SD ou HFD, après 6 et 12 mois de régime, avec le logiciel de traitement d'image ImageJ. (Figure 11)

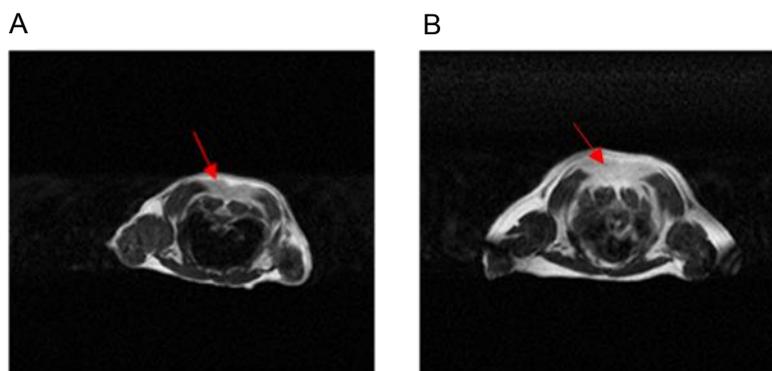


Figure 11 : Exemples de coupes transversales obtenues par imagerie par résonance magnétique chez des souris SD et HFD après 12 mois de régime.

Coupes transversales d'une souris SD (A) et d'une souris HFD (B). Les flèches rouges montrent le tissu adipeux brun chez les 2 groupes de souris.

g) Tomographie par émission de positons

Tous les animaux sont placés 15 minutes dans un incubateur à 24 ° C. Les souris ont ensuite reçu une injection intra péritonéale d'insuline à la concentration de 1,5 UI / kg (volume maximal de 0.2 ml). Directement après, une dose d'environ 35 MBq de ¹⁸F-FDG (dans un volume de 0,2 ml) est injectée par voie intraveineuse au niveau de la veine caudale sous anesthésie (1,5 à 2,5% d'inhalation isoflurane). Les souris sont replacées dans l'incubateur pendant l'absorption du FDG (une heure). Trois électrodes sont placées sur les surfaces intérieures des extrémités des membres pour un suivi électro cardiographique. Les animaux sont placés dans la position couchée sur le lit du TEP. Durant toute la durée de la procédure d'acquisition TEP, les souris sont sous anesthésie d'isoflurane en continu (1,5 à 2,5% d'inhalation isoflurane). Le système utilisé est un système dédié pour le petit animal (Inveon, Siemens, Knoxville, TN, USA). Le temps d'acquisition est de 60 min et 10 min pour la transmission. L'analyse est réalisée en utilisant le logiciel de travail *Siemens Inveon Research*.

Les données cardiaques sont analysées avec le logiciel *QGS* (QGS 2008, Cedars Sinai Medical Center, Los Angeles, USA) permettant une délimitation entièrement automatisé des parois endocardiques du VG et la détermination ultérieure : des volumes en fin de diastole (EDV « *end-diastolic volume* ») et de systole (ESV « *end-systolic volume* »), de la fraction d'éjection et du volume d'éjection. (Figure 12)

La captation du ¹⁸F-FDG dans le TAB et le tissu adipeux blanc est exprimée en SUV. Le SUV est défini comme étant la moyenne de ¹⁸F-FDG dans chaque volume d'intérêt (exprimé en kBq/ml) multiplié par le poids corporel de chaque animal (en kg) divisé par la dose injectée (en MBq). Pour le TAB interscapulaire, les volumes d'intérêt sont délimités visuellement à partir des images TEP.

Enfin, la captation du FDG au niveau cardiaque a été évalué en mesurant le ratio myocarde sur sang ou M/B « *myocardial to blood activity ratio* » après détermination des différents ROI (« *region of interest* ») : $M/B = \frac{M_{My}}{M_{Bl}}$. M_{My} correspond à l'absorption du FDG au niveau de la paroi du myocarde tandis que M_{Bl} correspond à l'absorption du FDG au niveau de la cavité. (Figure 12)

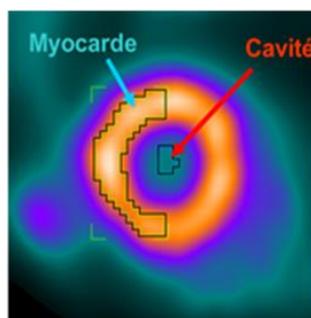


Figure 12 : Emplacements des ROIs (« *region of interest* ») sur une image du milieu du myocarde en fin de diastole en vue petit axe.

Le ROI du myocarde (bleu) et le ROI de la cavité (rouge) vont permettre la détermination du ratio myocarde sur sang.

h) Prélèvements tissulaires

Des prélèvements sont effectués après 6 mois de régime HFD ou SD et au bout de 12 mois lorsque l'ensemble des expérimentations ont été terminées. Les souris sont mises à mort par exsanguination. L'aorte thoracique et abdominale sont prélevées ainsi que les autres organes : cœur, reins, foie, graisse blanche, graisse brune et sont conservés dans de l'azote liquide avant d'être stockés à -80°C .

i) PCR

La technique de PCR (« *polymerase chain reaction* ») quantitative en temps réelle est utilisée afin d'analyser l'expression de l'ARNm (acide ribonucléique) dans le cœur des souris sous régime HFD ou SD après 6 et 12 mois de régime. L'ARN total est isolé en utilisant un kit commercial « *RNeasy® Mini* » (Qiagen, Hilden, Allemagne). L'ARN est ensuite quantifié à 260 nm en utilisant la spectroscopie UV. Une transcription inverse est effectuée en utilisant le kit « *cDNA Reverse Transcription kit High Capacity* » (Applied, ThermoFisher Sci-fique Inc., Waltham MA, USA). L'ADNc (Acide désoxyribonucléique complémentaire) est amplifié en utilisant « *iQ™ custom SYBR® Supermix* » (laboratoires BioRad, Hercules CA, USA). L'expression de l'ARNm est analysée à l'aide d'un appareil de PCR en temps réel (CFX real time PCR, laboratoires BioRad, Hercules CA, USA) par la méthode $\Delta\Delta\text{CT}$. L'expression est normalisée par rapport aux gènes β actine et HPRT

(« *Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase* »). Les amorces de PCR ont été obtenues chez BioRad.

j) Analyse statistique

Toutes les valeurs sont exprimées en moyenne +/- erreur standard à la moyenne (SEM). Les données ont été analysées par l'utilisation d'un ANOVA à mesures répétées ou d'un ANOVA à deux facteurs, couplé à un test de Fisher pour les comparaisons multiples afin d'évaluer l'influence de l'âge et du régime et de leur interaction sur les différents paramètres évalués. Tandis que les corrélations ont été analysées par l'utilisation d'un test de Spearman. L'analyse statistique a été réalisée avec le logiciel NCSS package 6,0 (JL Hintze, Kaysville, UT). Les valeurs $P < 0,05$ ont été considérées comme statistiquement significatives.

III. RESULTATS

a) Résistance au régime riche en graisses

Bien que la souche de souris C57BL6J soit la plus sensible à un régime riche en graisses, il a été montré dans la littérature que ces souris peuvent présenter une résistance.

Afin de savoir si nos souris présentent une résistance au régime que nous avons utilisé (HFD 60 % kcal provenant des graisses, 824054, DIETEX, France), nous nous sommes basé sur le poids des souris pour définir 2 groupes de souris : le groupe DIO ou « *Diet Induce Obesity* » qui correspond aux souris présentant un poids supérieur au poids moyen de l'ensemble des souris ayant reçu le régime HFD qui sont donc réceptives au régime et le groupe DR ou « *Diet Resistant* » qui correspond aux souris ayant un poids inférieur au poids moyen de l'ensemble des souris ayant reçu le régime HFD qui sont donc résistantes.

Sur les 40 souris ayant reçu un régime HFD, 20 souris seront étudiées. Après 6 mois de régime HFD, 13 souris soit 65% des souris sont DIO et 7 souris soit 35% sont DR. Après 12 mois de régime, le pourcentage reste le même qu'à 6 mois.

Au vu de ces résultats, nous avons choisi de ne pas faire de séparation pour la présentation des différents résultats qui vont suivre.

b) Paramètres métaboliques

Dans notre étude, les souris ont reçu soit un régime SD soit un régime riche HFD pendant une durée de 12 mois. Comme nous pouvons le voir sur la figure 13, un régime HFD conduit à une augmentation du poids corporel par rapport aux souris SD et cela dès le premier mois de régime. Cette différence va persister tout le long de l'étude.

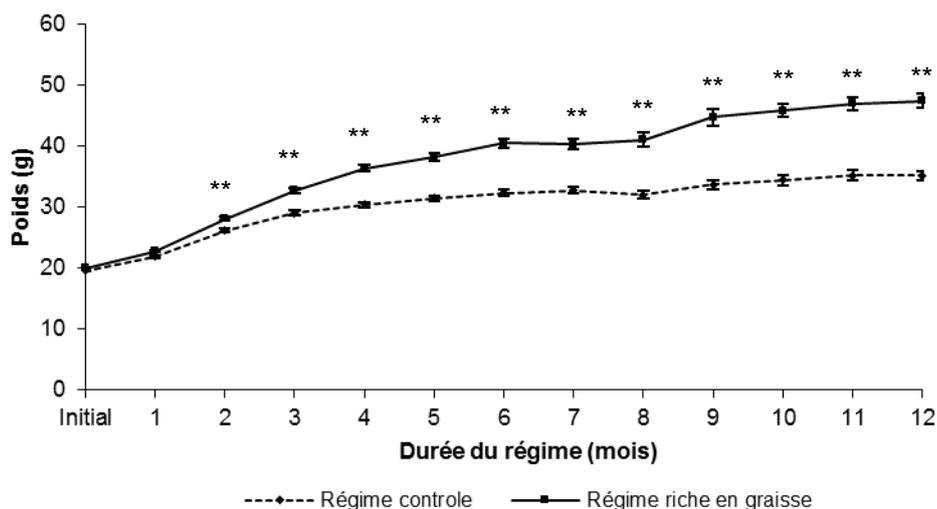


Figure 13 : Evolution du poids durant la durée de l'étude.

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SEM. ** $p < 0.01$ vs Régime SD. $n = 40$ / groupe jusqu'à 6 mois puis $n = 27 - 30$ / groupe jusqu'à 12 mois

Afin d'évaluer si les souris HFD présentent une dysfonction au niveau de la régulation du glucose, un test de tolérance au glucose a été effectué, après 6 et 12 mois de régime (Figure 14).

Après 6 mois de régime HFD, les souris sous régime présentent une altération de la réponse au glucose. En effet, une hyperglycémie est observée à la fin du test par rapport aux souris SD (Figure 14 A). De plus, les souris HFD ont une aire sous la courbe augmentée par rapport aux souris SD (Figure 14 B). Après 12 mois de régime, le profil glucidique durant le test est atténué : les souris HFD présentent seulement une détérioration de la tolérance au glucose 60 et 90 minutes après l'injection de glucose intrapéritonéal (Figure 14 C). L'aire sous la courbe n'est pas modifiée entre les groupes (Figure 14 D).

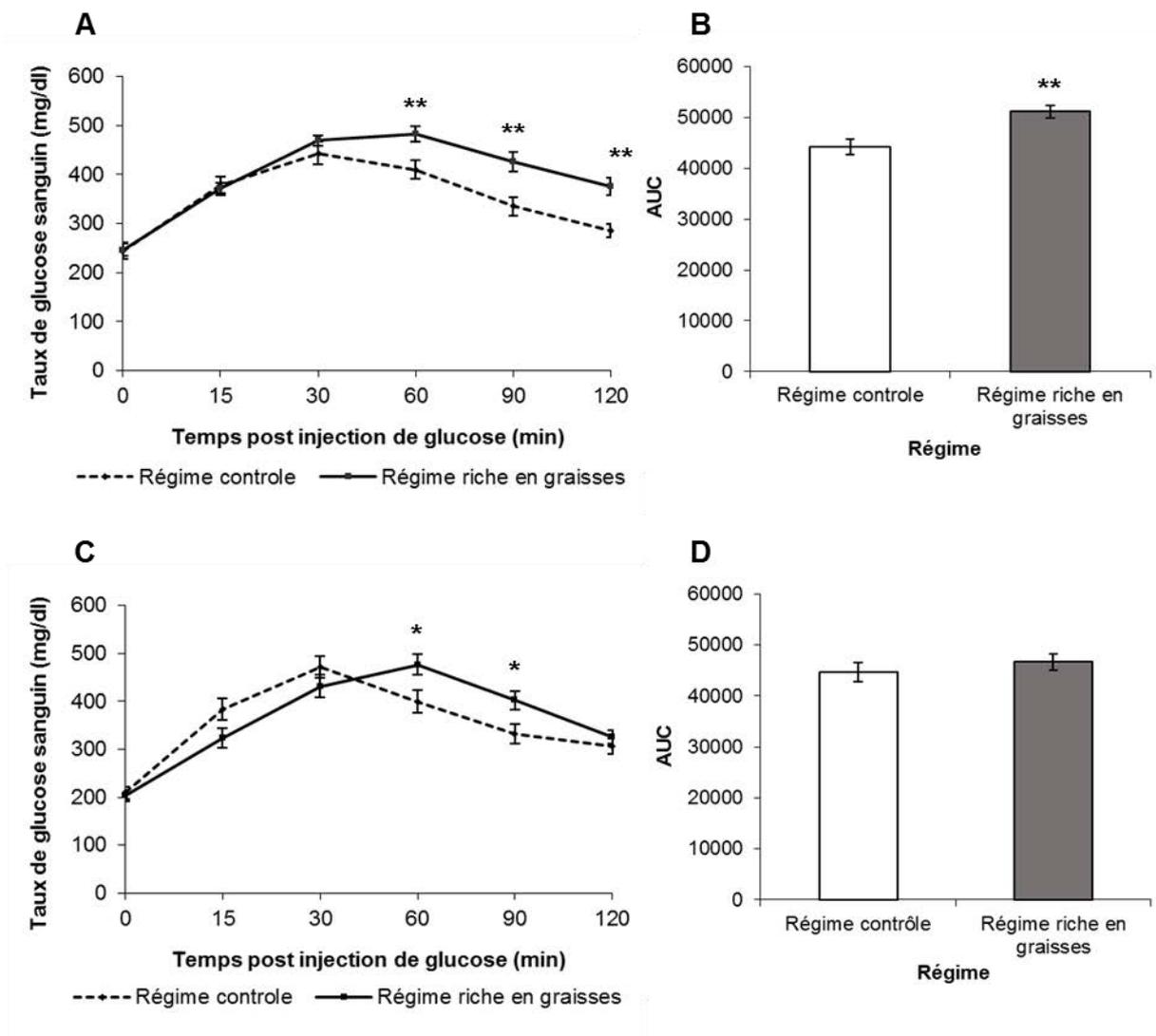


Figure 14 : Test de tolérance au glucose.

La tolérance au glucose a été évaluée après 6 (**A**) et 12 mois (**C**) de régime SD ou HFD. Les taux de glucose sanguin ont été évalués avant l'éjection de glucose (0) et après 12, 30, 60, 90 et 120 min d'une injection intrapéritonéale d'une solution de glucose à 1 mg / g. Les aires sous la courbe (AUC « *Area Under the Curve* ») après 6 (**B**) ou 12 mois de régime (**D**) ont également été calculées. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SEM. * $p < 0.05$ vs Régime SD ; ** $p < 0.01$ vs Régime SD. $n = 19 - 20$ / groupe à 6 et 12 mois.

Le tableau 1 montre l'ensemble des autres paramètres métaboliques évalués en fonction du temps ou du type de régime.

L'obésité est associée à des troubles métaboliques précoces.

En effet, les souris sous régime HFD présentent une hyperglycémie ($p < 0.01$), une augmentation du taux de cholestérol plasmatique ($p < 0.05$) et une augmentation du taux de leptine plasmatique ($p < 0.01$) dès 6 mois de régime par rapport aux souris SD. Cette différence est maintenue après 12 mois de régime.

Aucune différence au niveau du taux d'insuline plasmatique et de l'index de résistance à l'insuline (HOMA-IR « *Homeostasis model of assessment - insulin resistance* ») n'est observée entre les groupes de souris.

Le vieillissement est associé à une diminution du taux de triglycérides plasmatiques que ce soit chez les souris sous régime HFD ou SD. Le vieillissement induit également une diminution du taux d'adiponectine plasmatique et une augmentation du taux de leptine plasmatique qui est similaire chez les 2 groupes de souris.

Dans l'ensemble, nos résultats nous montrent que le régime HFD entraîne des modifications au niveau du métabolisme qui ne sont pas retrouvées chez les souris SD. Le vieillissement atteint certains paramètres métaboliques aussi bien chez les souris SD que chez les souris HFD.

Durée du régime	6 mois		12 mois		ANOVA		
	Régime contrôle	Régime riche en graisses	Régime contrôle	Régime riche en graisses	Effet temps	Effet régime	Interaction
Glycémie (mg/dl)	152 ± 5	222 ± 14 **	130 ± 5	250 ± 9 **	0,72	< 0,01	< 0,01
Cholestérol plasmatique total (mg/dl)	88,40 ± 3,52	99,68 ± 5,48 *	90,89 ± 4,31	110,51 ± 4,62 **	0,07	< 0,01	0,25
Triglycérides plasmatiques totaux (mg/dl)	79,83 ± 8,25	71,54 ± 5,00	59,08 ± 4,79 #	50,56 ± 2,66 \$	< 0,01	0,21	0,98
Insuline plasmatique (ng/ml)	0,769 ± 0,066	0,698 ± 0,078	0,700 ± 0,102	0,860 ± 0,125	0,63	0,65	0,25
HOMA IR	150 ± 13	199 ± 26	111 ± 14	176 ± 37	0,13	0,06	0,67
Adiponectine plasmatique (µg/ml)	5,34 ± 0,39	6,18 ± 0,39	4,01 ± 0,27 #	5,05 ± 0,28 †	< 0,01	< 0,05	0,89
Leptine plasmatique (ng/ml)	0,133 ± 0,016	0,282 ± 0,038 **	0,202 ± 0,019 ‡	0,350 ± 0,035 ** †	< 0,01	< 0,01	0,99

Tableau 1 : Effets d'un régime riche en graisses ou contrôle et du vieillissement sur les paramètres métaboliques.

Les résultats sont exprimés en moyenne ± SEM. * p < 0.05 vs Régime SD à 6 mois et / ou Régime SD à 12 mois ; ** p < 0.01 vs vs Régime SD à 6mois et / ou Régime SD à 12 mois. † p < 0,05 vs Régime HFD à 6 mois ; \$ p < 0.01 vs Régime HFD à 6 mois ; ‡ p < 0,05 vs Régime SD à 6 mois ; # p < 0.01 vs Régime SD à 6 mois. n = 11 - 14 / groupe à 6 et 12 mois. HOMA-IR : « *Homeostasis model of assessment - insulin resistance* », Indice de sensibilité à l'insuline.

c) Effets du régime est du vieillissement sur les paramètres hémodynamiques et cardiovasculaire

Suite à un régime HFD, les souris ne présentent aucune modification de la FC et de la PAS. La FC après 6 mois de régime est de respectivement de 651 ± 10 bpm et de 636 ± 14 bpm chez les souris SD et HFD. La FC n'évolue pas au cours du temps, les souris SD ont une FC de 636 ± 14 bpm et les souris HFD une FC de 665 ± 39 (Figure 15 A) après 12 mois de régime. Suite à un régime de 6 mois, les souris SD ont une PAS de 121 ± 3 mmHg et les souris HFD une PAS de 117 ± 2 mmHg. Tout comme pour la FC, aucune modification n'est observée au cours du vieillissement. Les souris SD ont une PAS de 124 ± 5 et les souris HFD une PAS de 126 ± 3 (Figure 15 B).

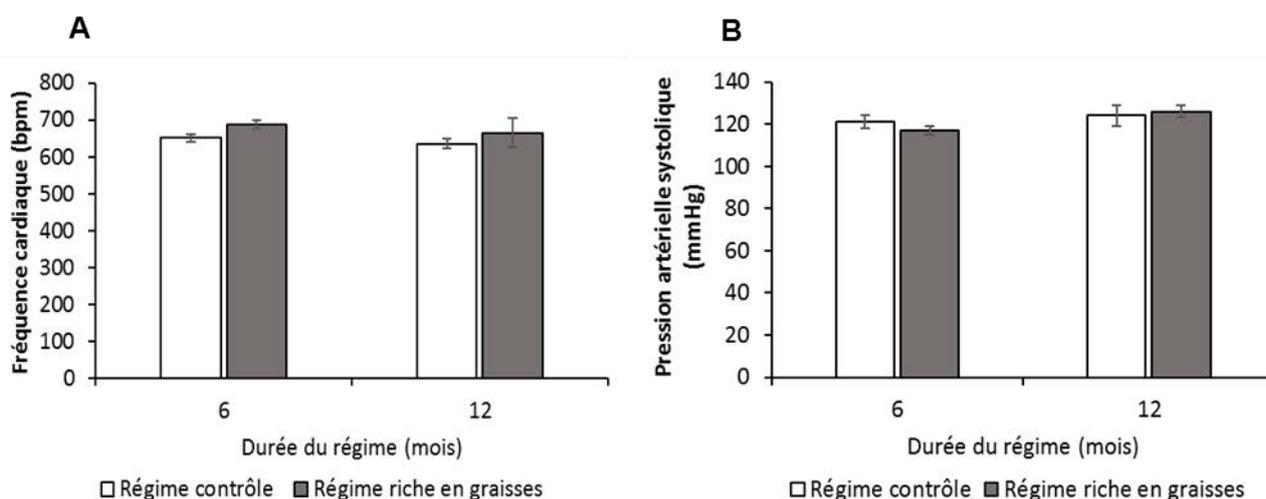


Figure 15 : Effets d'un régime riche en graisse ou contrôlé et du vieillissement sur la fréquence cardiaque et la pression artérielle systolique.

(A) Fréquence cardiaque exprimée en bpm (battements par minute) après 6 et 12 de régime SD ou HFD ; (B) Pression artérielle systolique après 6 et 12 mois de régime SD ou HFD. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SEM. n = 11 - 13 / groupe à 6 et 12 mois.

Le tableau 2 illustre les changements des paramètres cardiaques selon le type de régime et au cours du temps.

Mise à part une augmentation de LVPWd après 6 mois de régime HFD ($p < 0.01$), aucun changement dans la morphologie du VG n'est observé.

Après 12 mois de régime, les effets sont beaucoup plus prononcés et les souris présentent un remodelage cardiaque. En effet, une augmentation de la masse du VG ($p < 0.01$) et un épaississement de IVSd ($p < 0.05$) sont observés chez les souris HFD après 12 mois de régime comparé aux souris SD.

Le vieillissement va conduire à une augmentation de ces 2 paramètres retrouvée aussi bien chez les souris SD que chez les souris HFD.

Une dilatation du VG caractérisé par une augmentation de LVIDd est observée chez les souris HFD entre 6 et 12 mois de régime ($p < 0.01$). L'ensemble de ces résultats nous laisse penser que les souris HFD présentent une hypertrophie excentrique suite au vieillissement. De plus, seules les souris HFD présentent une augmentation du volume d'éjection entre 6 et 12 mois de régime ($p < 0.01$).

La rigidité, évaluée par le CSA et ΔA , n'est ni affectée par le régime ni par le vieillissement.

Le régime HFD va également conduire à des modifications fonctionnelles au cours du temps. En effet, les souris HFD présentent une altération de la fraction d'éjection et de la fraction de raccourcissement, caractérisée par une diminution au cours du temps de ces 2 paramètres ($p < 0.05$ pour les 2). Ainsi les souris HFD développent une dysfonction systolique au cours du vieillissement. Les souris HFD présentent également une augmentation du volume d'éjection entre 6 et 12 mois de régime.

Au cours du vieillissement, les souris SD présentent une dysfonction diastolique caractérisée par une diminution de IVRT et de DT entre 6 et 12 mois de régime ($p < 0.01$ pour les 2). Une diminution de ces deux paramètres est également mise en évidence chez les souris HFD mais la différence n'est pas significative. Le ratio E/A n'est pas affecté par le régime ou le vieillissement.

Durée du régime	6 mois		12 mois		ANOVA		
Type de régime	Régime contrôle	Régime riche en graisses	Régime contrôle	Régime riche en graisses	Effet temps	Effet régime	Interaction
Masse du ventricule gauche (mg)	117 ± 6	122 ± 6	139 ± 7 ‡	166 ± 6 ** \$	< 0.01	< 0.05	0,09
IVSd (mm)	0,88 ± 0,03	0,92 ± 0,03	1,14 ± 0,05 #	1,32 ± 0,07 * \$	< 0.01	< 0.05	0,20
LVPWd (mm)	1,05 ± 0,06	1,30 ± 0,07 **	1,01 ± 0,06	1,05 ± 0,04 \$	< 0.05	< 0.05	0,09
LVIDd (mm)	3,86 ± 0,06	3,48 ± 0,12	3,95 ± 0,09	4,05 ± 0,10 \$	< 0.01	0,20	< 0.05
CSA (%)	0.22 ± 0.01	0.19 ± 0.01	0.22 ± 0.01	0.21 ± 0.01	0.31	0.23	0.62
ΔA (mm ²)	0.062 ± 0.005	0.055 ± 0.003	0.059 ± 0.003	0.061 ± 0.003	0.78	0.52	0.32
Volume d'éjection (μl)	44,19 ± 1,59	39,55 ± 2,01	45,21 ± 1,75	48,34 ± 1,80 \$	< 0.01	0,72	< 0.01
Fraction d'éjection (%)	64,79 ± 1,97	68,43 ± 1,84	60,74 ± 2,15	61,67 ± 1,85 †	< 0.05	0,21	0,52
Fraction de raccourcissement (%)	35,07 ± 1,45	37,90 ± 1,55	32,30 ± 1,54	33,03 ± 1,38 †	< 0.05	0,21	0,51
IVRT (ms)	25,79 ± 2,16	21,19 ± 3,19	16,78 ± 1,05 #	16,52 ± 1,31	< 0.01	0,28	0,24
DT (ms)	21,55 ± 2,08	15,68 ± 1,61 *	12,97 ± 1,13 #	12,34 ± 1,27	< 0.01	< 0.05	0,17
E/A	1,69 ± 0,09	1,58 ± 0,07	1,54 ± 0,07	1,46 ± 0,09	0,09	0,26	0,82

Tableau 2 : Effets d'un régime riche en graisses ou contrôle et du vieillissement sur les paramètres écho cardiographiques.

Les résultats sont exprimés en moyenne ± SEM. * p < 0.05 vs Régime SD à 6 mois et / ou Régime SD à 12 mois ; ** p < 0.01 vs Régime SD à 6 mois et / ou Régime SD à 12 mois. † p < 0,05 vs Régime HFD à 6 mois ; \$ p < 0.01 vs Régime HFD à 6 mois ; ‡ p < 0,05 vs Régime SD à 6 mois ; # p < 0.01 vs Régime SD à 6 mois. n = 11 - 20 / groupe à 6 et 12 mois. IVS : « *interventricular septum* » septum interventriculaire ; LVPW : « *left ventricular posterior wall* » paroi postérieure du ventricule gauche ; LVID : « *left ventricular internal diameter* » diamètre interne du ventricule gauche ; CSA : « *carotid arterial strain* » ; ΔA : « *stroke change in lumen area* » ; IVRT : « *isovolumic relaxation time* » temps de relaxation isovolumétrique ; DT : « *deceleration time* » temps de décélération ; E/A: ratio du flux mitral en début et fin de diastole.

Il est connu que les adipokines et plus particulièrement la leptine, peuvent être impliquées dans le processus d'hypertrophie. Ainsi nous avons cherché à savoir si dans notre étude les taux de leptine plasmatique chez les souris HFD sont corrélés avec des paramètres morphologiques ou fonctionnels cardiaques.

Une corrélation positive entre le taux de leptine plasmatique et IVSd est retrouvée chez les souris sous régime HFD après 12 mois de régime ($p < 0.05$ SPEARMAN) (Figure 16).

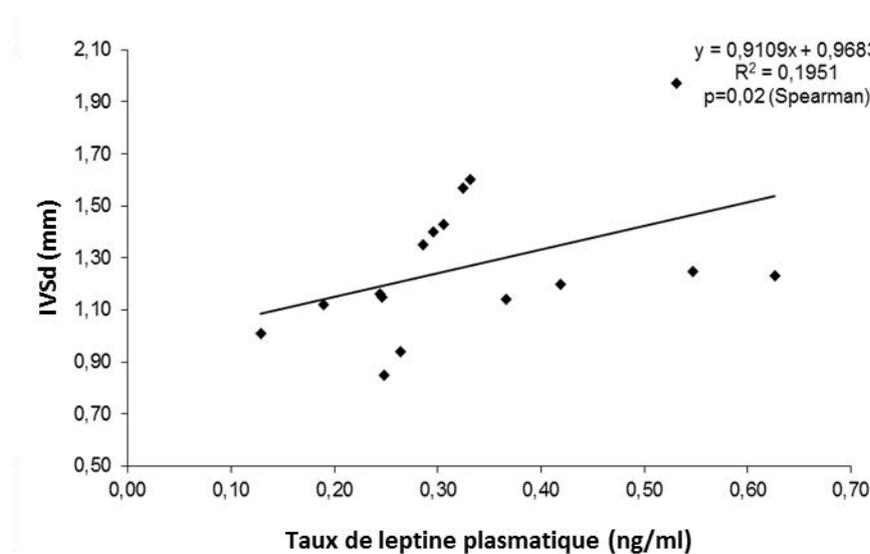


Figure 16 : Corrélation entre les taux de leptine plasmatique et l'épaisseur du septum interventriculaire chez les souris HFD après 12 mois de régime.

IVSd : « *interventricular septum* »

d) Evaluation du niveau de graisse et du volume de tissu adipeux brun par imagerie par résonance magnétique

La technique d'IRM a été utilisée afin de déterminer le niveau de graisse général des 2 groupes de souris de par l'évaluation du rapport eau graisse mais également le volume de TAB.

Après 6 mois de régime, les souris HFD présentent un rapport eau graisse plus faible que les souris SD (respectivement 1.49 ± 0.18 vs 4.66 ± 0.35 ; $p < 0,01$).

Cette différence est également retrouvée après 12 mois de régime (respectivement 1.18 ± 0.09 vs 2.40 ± 0.20 ; $p < 0,01$). Le vieillissement entraîne une diminution de ce rapport chez les souris SD. (Figure 17)

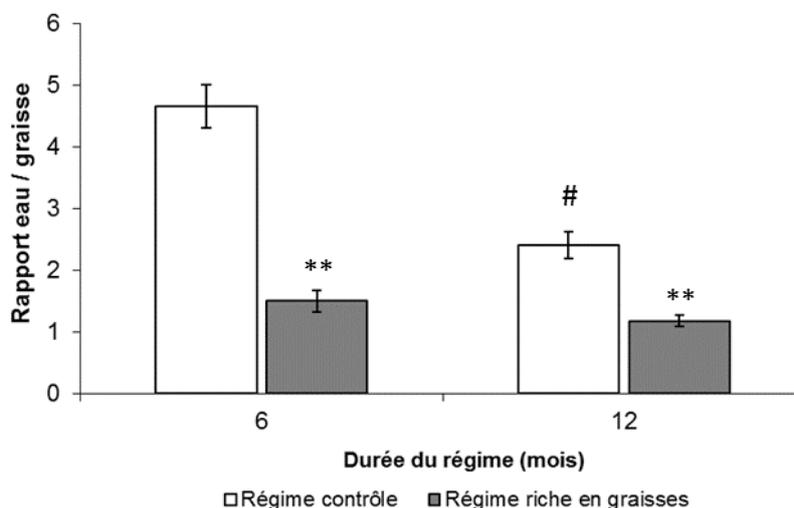


Figure 17 : Effets d'un régime riche en graisses ou contrôle et du vieillissement sur la graisse évaluée par imagerie par résonance magnétique.

Rapport eau graisse après 6 et 12 mois de régime SD ou HFD. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SEM. ** $p < 0.01$ vs Régime SD à 6 mois et / ou Régime SD à 12 mois. # $p < 0.01$ vs Régime SD à 6 mois. $n = 17$ SD et $n = 19$ HFD à 6 et 12 mois.

Le volume de TAB a été évalué à partir des coupes transversales obtenues par IRM chez les souris SD et sous régime HFD (cf. Figure 11 Matériel et méthodes)

Après 6 et 12 mois de régime HFD, les souris présentent un volume plus élevé de graisse brune comparé aux souris sous régime SD (respectivement 145.1 ± 11.8 vs 73.9 ± 3.9 mm³ à 6 mois et 175.6 ± 22.6 vs 84.9 ± 7.9 mm³ à 12 mois ; $p < 0,01$) (Figure 18). De plus, une corrélation positive statistiquement significative est mise en évidence entre le volume de TAB et le poids des souris que ce soit après 6 ou 12 mois de régime et chez les 2 groupes de souris ($p < 0,01$).

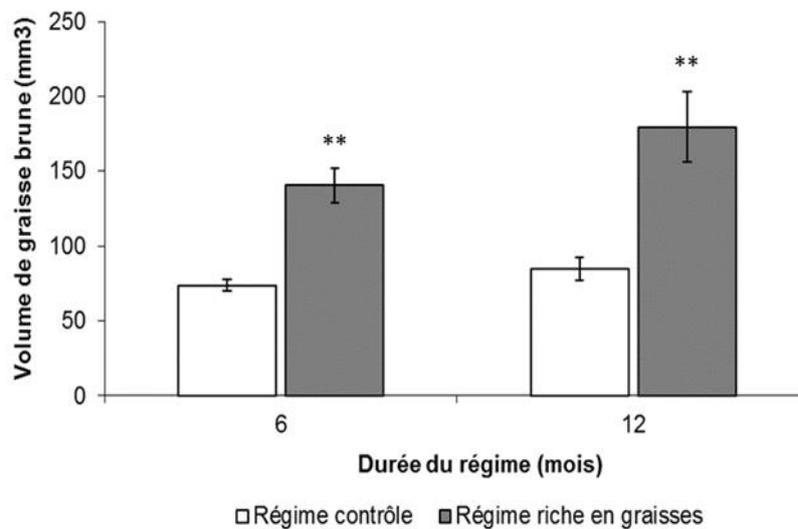


Figure 18 : Effets d'un régime riche en graisses ou contrôle et du vieillissement sur le volume de tissu adipeux brun évalué par imagerie par résonance magnétique.

Volume de tissu adipeux brun après 6 et 12 mois de régime SD ou HFD. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SEM. ** $p < 0.01$ vs Régime SD à 6 mois et / ou Régime SD à 12 mois. $n = 19$ SD et $n = 18$ HFD à 6 et 12 mois.

e) Evolution du métabolisme du glucose au niveau de la graisse blanche et de la graisse brune

Le TEP a été utilisé afin de déterminer le métabolisme du glucose au niveau de la graisse blanche et de la graisse brune de par la captation du ^{18}F -FDG (Figure 19 A).

Après 6 mois de régime, les souris HFD présentent une diminution statistiquement significative de la captation du ^{18}F -FDG au niveau du tissu adipeux blanc, comparé aux souris SD (respectivement 0.10 ± 0.01 vs 0.21 ± 0.02 SUV-bw). Après 12 mois de régime HFD, la diminution de la captation est maintenue. En effet, la captation du ^{18}F -FDG est de 0.14 ± 0.01 SUV-bw pour les souris HFD et de 0.21 ± 0.013 SUV-bw pour les souris SD. Le vieillissement n'affecte pas le métabolisme. (Figure 19 B).

Au niveau du TAB, aucune différence n'est observée entre les deux groupes de souris que ce soit après 6 ou 12 mois de régime. Le vieillissement conduit à une augmentation de la captation de ^{18}F -FDG uniquement chez les souris SD. (Figure 19 C).

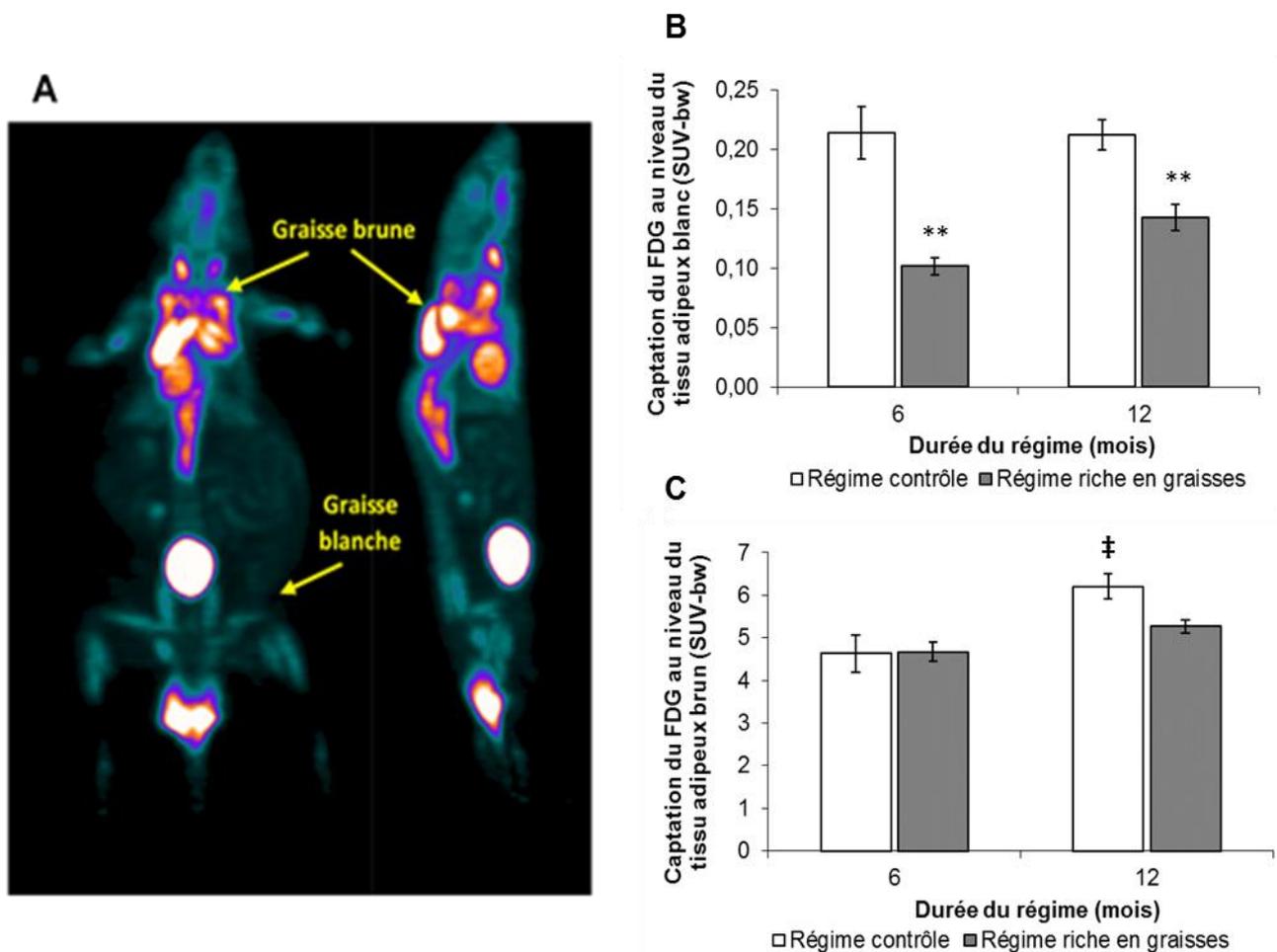


Figure 19 : Effets d'un régime riche en graisse ou contrôle et du vieillissement sur le métabolisme du glucose au niveau du tissu adipeux blanc et du tissu adipeux brun évaluée par tomographie par émission de positons.

Exemple d'images obtenues par TEP (A). Captation du ^{18}F -FDG au niveau du tissu adipeux blanc (B) et du tissu adipeux brun (C) après 6 et 12 mois de régime SD ou HFD. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SEM. ** $p < 0,01$ vs Régime SD à 6 mois et / ou Régime SD à 12 mois ; ‡ $p < 0,05$ vs Régime SD à 6 mois. (B) $n = 6 - 8$ / groupe à 6 mois et $n = 11 - 14$ / groupe à 12 mois ; (C) $n = 7$ / groupe à 6 mois et $n = 10 - 12$ / groupe à 12 mois.

f) Evolution du métabolisme du glucose au niveau du cœur

Au niveau du cœur, le métabolisme du glucose, évalué par le ratio myocarde sur sang, n'est pas modifié entre les souris SD et HFD que ce soit après 6 ou 12 mois de régime. (Figure 20). En effet, après 6 mois de régime, le ratio myocarde sur sang est respectivement de 4.63 ± 0.23 SUV-bw et de 4.09 ± 0.22 SUV-bw pour les souris SD et HFD après 6 mois de régime. Après 12 mois, les souris SD ont un ratio de 4.44 ± 0.27 SUV-bw et les souris HFD un ratio de 5.02 ± 0.24 SUV-bw.

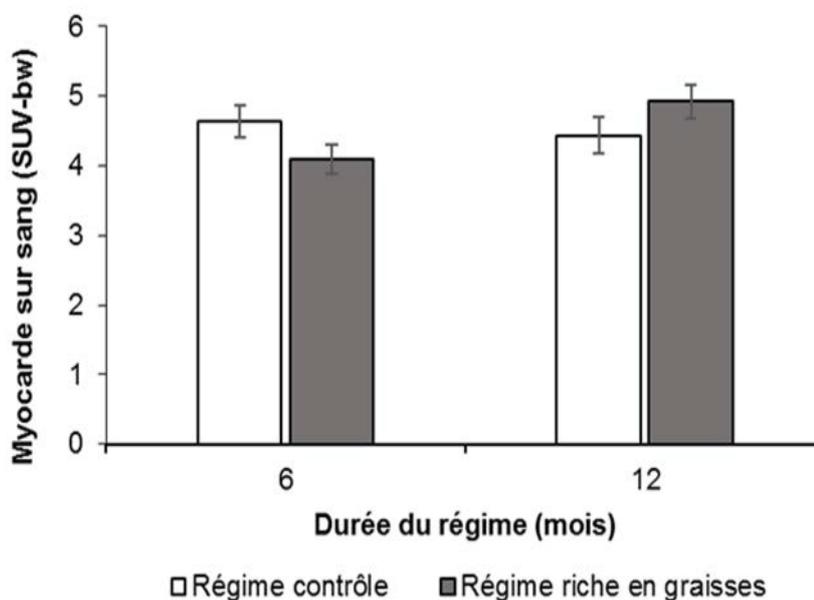


Figure 20 : Effets d'un régime riche en graisse ou contrôle et du vieillissement sur le métabolisme du glucose au niveau du cœur évalué par tomographie par émission de positons. Ratio myocarde sur sang après 6 et 12 mois de régime SD ou HFD. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SEM. n = 8 - 11 / groupe à 6 mois et n = 11 - 16 / groupe à 12 mois.

g) Evaluation des paramètres fonctionnels cardiaques par tomographie par émission de positons

La technologie TEP a également été utilisé afin de déterminer les paramètres fonctionnels cardiaques tels que : les volumes en fin de diastole (EDV « *end-diastolic volume* ») et de systole (ESV « *end-systolic volume* »), la fraction d'éjection et le volume d'éjection. (Figure 21)

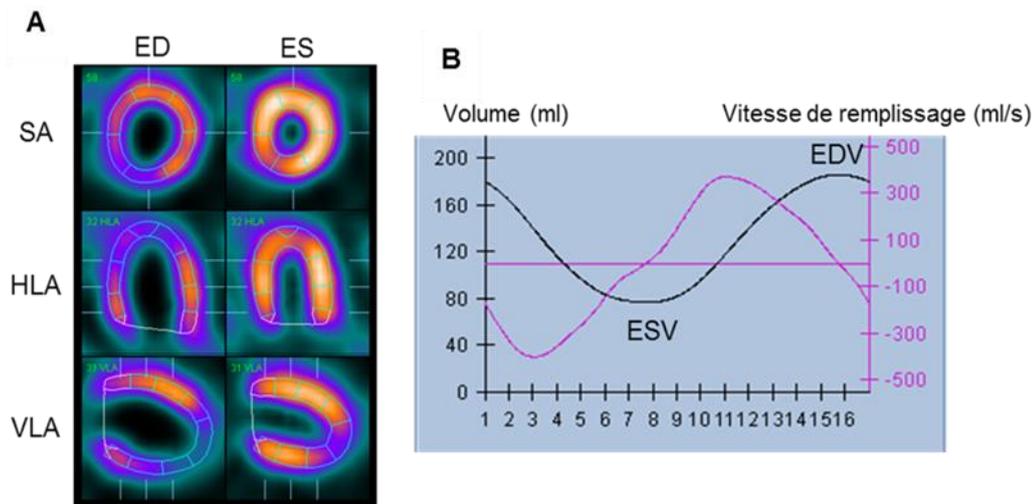


Figure 21 : Exemple de résultats TEP chez une souris HFD après 6 mois de régime.

(A) Images de la fin de diastole (ED « *end-diastole* ») à la fin de diastole (ES « *end-systole* ») après détection automatique des parois par le logiciel QGS et après réorientation en vue petit axe (SA « *short-axis* »), et en vue long axe horizontale (HLA « *horizontal long axis* ») et verticale (VLA « *vertical long axis* »). (B) Courbes de volume et de vitesse de remplissage du ventricule gauche montrant le volume en fin de diastole (EDV « *end-diastolic volume* ») et en fin de systole (ESV « *end-systolic volume* »).

Aucune différence entre les deux groupes de souris n'a été retrouvée pour les paramètres cardiaques évalués par TEP que ce soit après 6 ou 12 mois de régime.

Cependant, le vieillissement entraîne des altérations fonctionnelles. En effet, les souris HFD présentent une augmentation du volume en fin de systole par rapport aux souris SD (Figure 22 A ; $p < 0.05$). Une diminution de la fraction d'éjection entre 6 et 12 mois est observée à la fois chez les souris HFD et SD (Figure 22 C ; $p < 0.05$ pour les souris SD et $p < 0.01$ pour les souris HFD). Enfin, le vieillissement induit une diminution du volume d'éjection uniquement chez les souris SD (Figure 22 D ; $p < 0.01$)

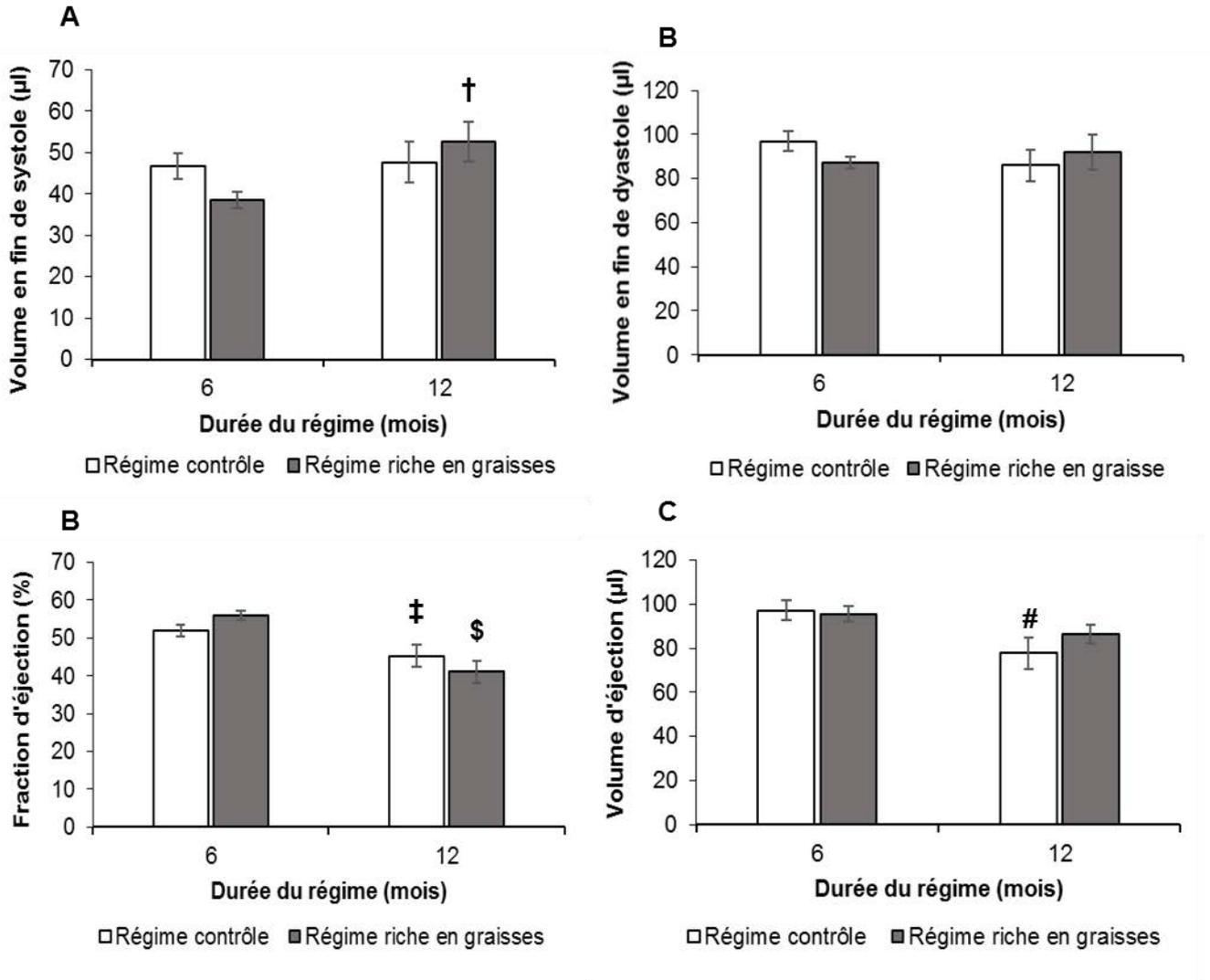


Figure 22 : Effets d'un régime riche en graisses ou contrôle et du vieillissement sur les paramètres cardiaques évalués par TEP.

(A) Volume en fin de systole, (B) volume en fin de diastole, (C) fraction d'éjection et (D) volume d'éjection après 6 ou 12 mois de régime SD ou HFD. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SEM. † $p < 0.05$ vs Régime HFD à 6 mois ; § $p < 0.01$ vs Régime HFD à 6 mois ; ‡ $p < 0.05$ vs Régime SD à 6 mois ; # $p < 0.01$ vs Régime SD à 12 mois. $n = 18 - 19$ SD et $n = 13 - 15$ HFD à 6 et 12 mois.

Nous avons cherché à savoir si les paramètres fonctionnels évalués par TEP étaient similaires ou non à ceux évalués par échocardiographie. Tous les paramètres mesurés par TEP sont différents de ceux obtenus par échocardiographie.

Cependant, après 12 mois une corrélation positive entre le volume en fin de systole mesuré par échocardiographie et par TEP est retrouvée dans l'ensemble de la population. (Figure 23)

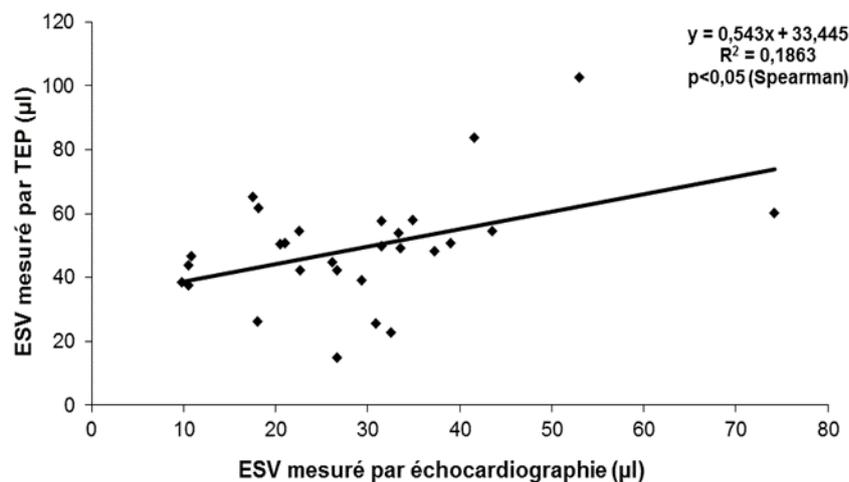


Figure 23 : Corrélation entre le volume en fin de systole mesuré par tomographie par émission de positons et par échocardiographie dans l'ensemble de la population après 12 mois.

TEP : Tomographie par émission de positons ; ESV : « *End-systolic volume* » Volume en fin de systole.

Une corrélation positive a également été retrouvée entre : le volume en fin de systole mesuré par échocardiographie et par TEP (Figure 24 A) ; le volume en fin de diastole mesuré par échocardiographie et par TEP (Figure 24 B), après 12 mois chez les souris HFD.

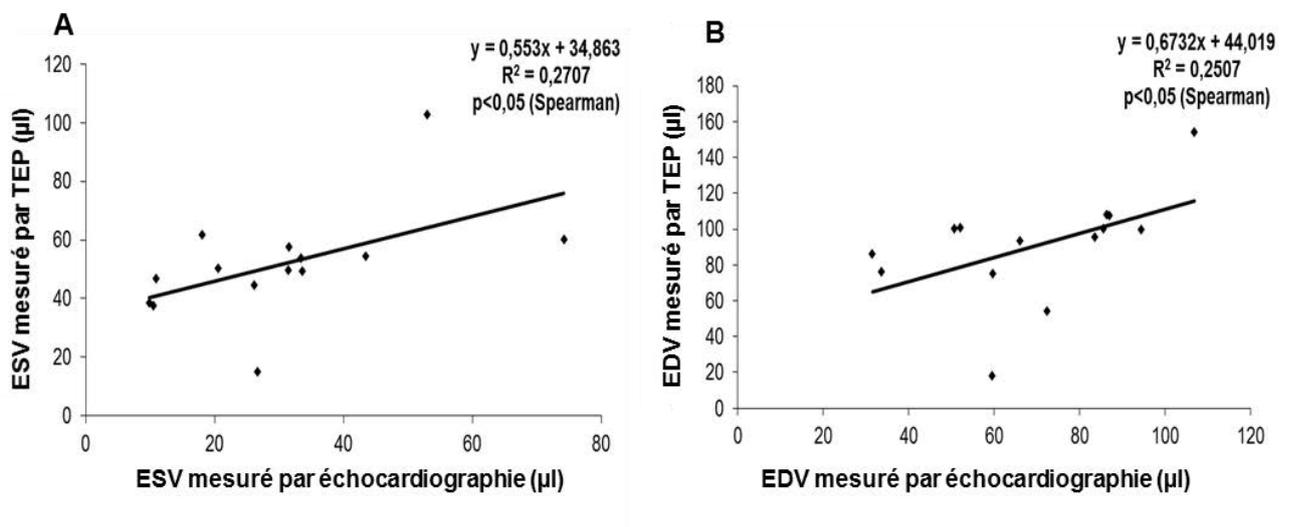


Figure 24 : Corrélation entre les volumes en fin de systole et en fin diastole mesurés par tomographie par émission de positons et par échocardiographie chez les souris HFD après 12 mois de régime.

Volumes en fin de systole (**A**) et en fin diastole (**B**) mesurés par échocardiographie et par TEP.

TEP : Tomographie par émission de positons ; ESV : « *End-systolic volume* » Volume en fin de systole ; EDV : « *End-diastolic volume* » Volume en fin de diastole.

h) Altération de l'expression des gènes au niveau cardiaque

Nous avons fait le choix d'étudier au niveau cardiaque, l'expression de gènes impliqués : dans l'inflammation, dans la fibrose et dans le vieillissement.

Au niveau inflammatoire, le régime HFD n'altère pas l'expression de Nfkb (Figure 23 A) ainsi que de TGFβ1 (Figure 25 B). L'expression de ses 2 gènes reste également stable au cours du temps.

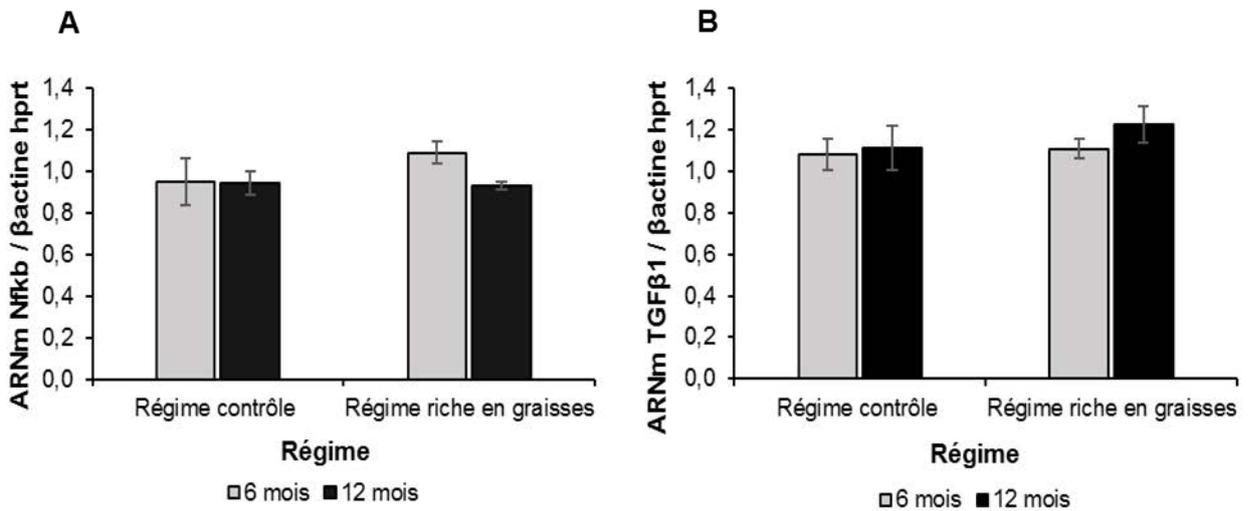


Figure 25 : Effets d'un régime riche en graisses ou contrôle et du vieillissement sur l'expression de gènes inflammatoires au niveau cardiaque.

Expression de l'ARNm de Nfkb (A) et de TGFβ1 (B) après 6 et 12 mois de régime SD ou HFD. Les expressions sont normalisées par rapport à la βactine et hprt. Les résultats sont exprimés en moyenne ± SEM. n = 6 - 9 / groupe à 6 et 12 mois.

Etant donné que nos souris sous régime HFD présentent une hypertrophie au niveau cardiaque, nous avons décidé de voir si cette observation était retrouvée au niveau de l'expression de gènes impliqués dans ce phénomène.

L'expression de Nppb n'est pas modifiée entre les souris sous régime SD et HFD. Cependant, le vieillissement entraîne une altération de l'expression de ce gène chez les deux groupes de souris. En effet, entre 6 et 12 mois, les souris SD et HFD présentent une augmentation de l'expression du gène (Figure 26 A).

Comme précédemment, aucune différence d'expression n'est observée pour l'expression de la périostine entre les souris SD et HFD. Le vieillissement entraîne une up-régulation de l'expression de ce gène uniquement chez les souris HFD ($p < 0.05$) (Figure 26 B)

Après 12 mois, un régime HFD conduit à une augmentation de l'expression de Col3a1 par rapport aux souris SD ($p < 0.05$). De plus, le vieillissement associé à l'obésité entraîne une augmentation plus importante de l'expression de ce gène ($p < 0.05$) (Figure 26 C).

L'expression de MM2 est également augmentée chez les souris HFD par rapport aux souris SD après 12 mois de régime ($p < 0.05$). Le vieillissement conduit également à une augmentation de l'expression de ce gène mais uniquement chez les souris HFD ($p < 0.05$) (Figure 26 D).

Ainsi l'augmentation de l'expression des marqueurs de fibroses chez les souris HFD confirment bien la présence d'une hypertrophie observée par échocardiographie.

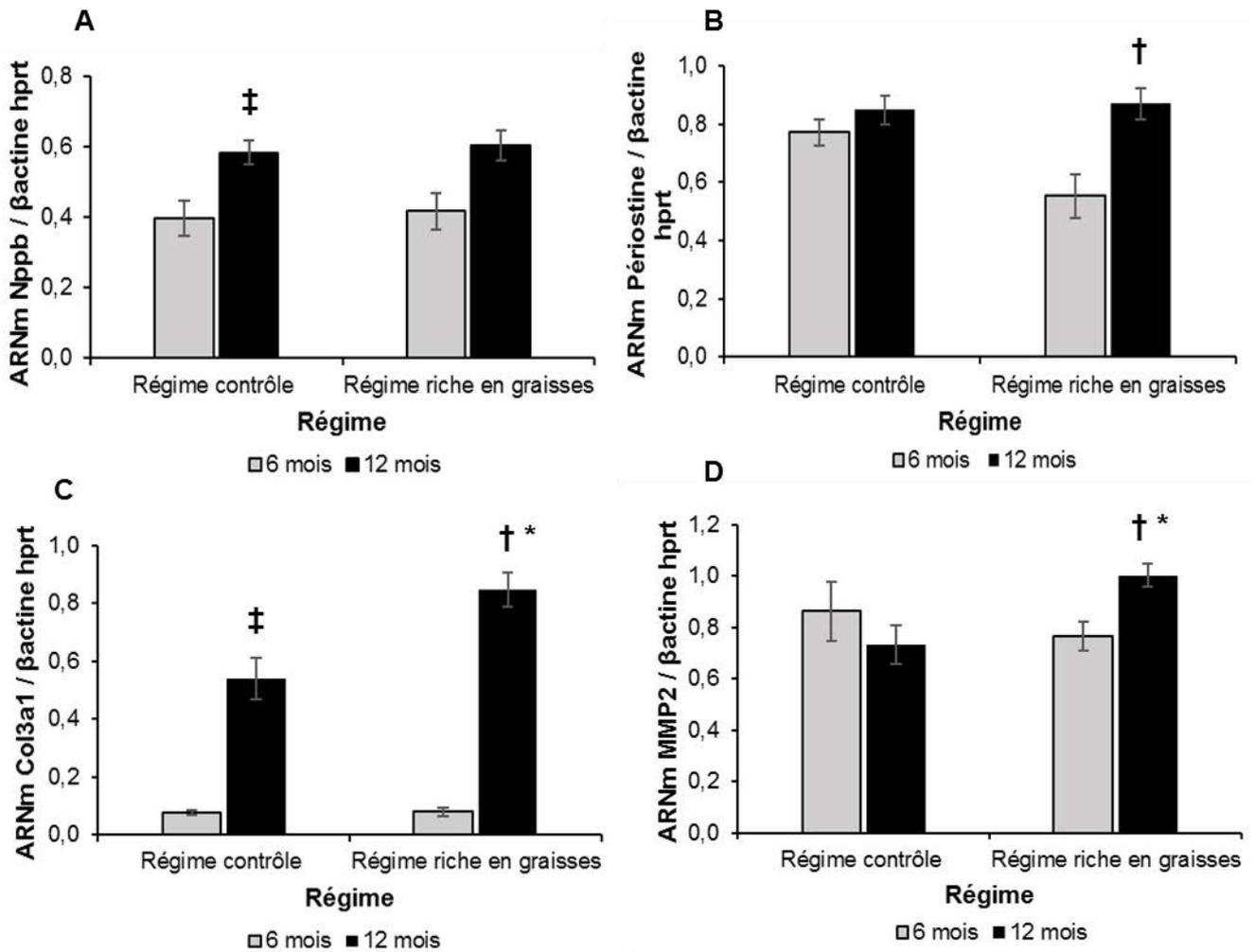


Figure 26 : Effets d'un régime riche en graisses ou contrôle et du vieillissement sur l'expression de gènes impliqués dans la fibrose au niveau cardiaque.

Expression de l'ARNm de Nppb (A), de la périostine (B), du Col3a1 (C) et de MMP2 (D) après 6 et 12 mois de régime SD ou HFD. Les expressions sont normalisées par rapport à la β actine et hprt. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SEM. * $p < 0.05$ vs Régime SD à 12 mois ; † $p < 0.05$ vs Régime HFD à 6 mois ; ‡ $p < 0.05$ vs Régime SD à 6 mois. $n = 5 - 9$ / groupe à 6 et 12 mois.

Nous nous sommes ensuite intéressés à l'expression de GDF11, un gène ayant montré son implication au cours du vieillissement.

Aucune différence d'expression de GDF11 n'a été observée entre groupe, que ce soit après 6 ou 12 mois de régime.

Cependant, le régime HFD induit une modification de l'expression de GDF11 caractérisée par une augmentation de l'ARNm entre 6 et 12 mois de régime ($p < 0.01$). Durant cette même période, aucune modification d'expression n'a été observée pour les souris SD. (Figure 25)

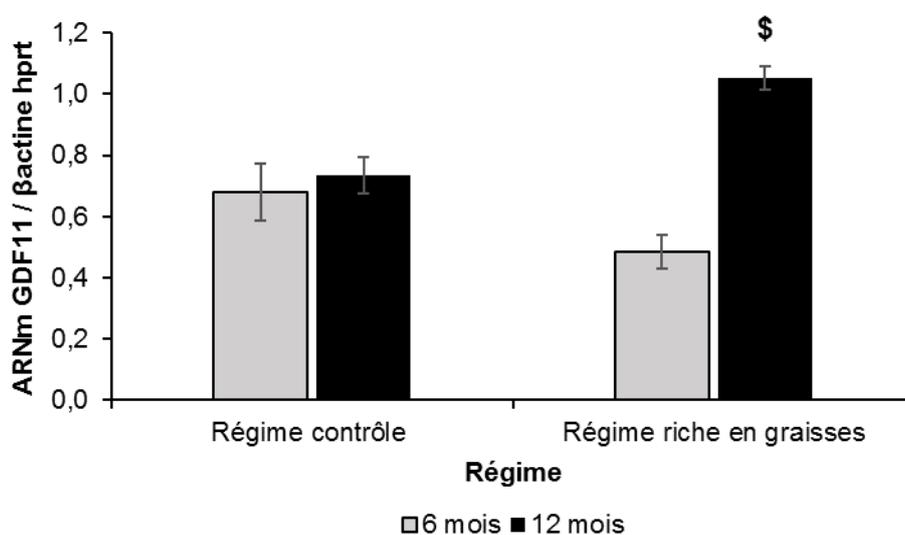


Figure 27 : Effets d'un régime riche en graisses ou contrôle et du vieillissement sur l'expression du gène GDF11 au niveau cardiaque.

L'expression est normalisée par rapport à la β actine et hppt. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SEM. \$ $p < 0.01$ vs Régime HFD à 6 mois. n = 5 - 8 / groupe à 6 et 12 mois.

DISCUSSION

Le modèle animal que nous avons choisi est un modèle murin couramment utilisé pour étudier les altérations dues à l'obésité ou au syndrome métabolique.

L'état métabolique des souris C57BL6J suite à un régime HFD a déjà été étudié. Dans notre travail nous confirmons qu'un régime HFD induit une obésité qui va conduire à des dysfonctions au niveau du métabolisme. En effet, les souris HFD présentent une forte augmentation du poids, et ce dès le premier mois de régime, ce qui est cohérent avec d'autres études montrant une augmentation qui apparaît à partir de 4 semaines et qui peut atteindre 20 à 30 % après 16 à 20 semaines de régime HFD par rapport à des souris ayant reçu un régime standard (Gallou-Kabani et al., 2007; Speakman et al., 2007; Wang and Liao, 2012).

Nous confirmons qu'un régime HFD conduit à des troubles métaboliques précoces tels qu'une hyperglycémie ou encore une augmentation du taux de cholestérol plasmatique. (Gallou-Kabani et al., 2007; Matsuzawa-Nagata et al., 2008; Muller et al., 2013)

Différentes études ont mis en évidence qu'un régime HFD conduit à une augmentation du taux d'insuline et une résistance à l'insuline. Kim et al. ont montré, à partir de 4 semaines de régime, une forte augmentation du taux d'insuline plasmatique qui est également retrouvée après un régime de plus longue durée où les calories des régimes sont apportées à 40% ou 60% par les graisses (Buettner et al., 2007; Kim et al., 2008; Matsuzawa-Nagata et al., 2008). Dans notre étude, nous ne retrouvons aucune altération du taux d'insuline ou de l'index de résistance à l'insuline, que ce soit après 6 ou 12 mois de régime.

Le temps et le régime sont deux facteurs qui influencent fortement le taux de leptine plasmatique.

En effet, après 6 ou 12 mois de régime, les souris ayant reçu un régime HFD ont un taux plus élevé de leptine comparée aux souris SD. Chez les souris HFD, le taux de leptine est corrélé positivement avec le poids après 6 et 12 mois de régime et, dans les 2 groupes de souris, la leptinémie avec l'âge confirmant les résultats précédemment rapportés (Ahrén, 1999; Ahrén et al., 1997)

Aucune différence n'est observée pour le niveau d'adiponectine plasmatique entre les 2 groupes de souris. Chez les souris HFD et SD, le taux d'adiponectine diminue avec l'âge. Toutefois, ces résultats doivent être analysés avec précaution car les niveaux d'adiponectine ont montré énormément varier chez les animaux.

Je me suis ensuite intéressée aux modifications hémodynamiques, morphologiques et fonctionnelles cardiaques induites par un régime HFD.

Dans notre étude, la PAS n'est pas affectée que ce soit par le régime ou par le temps pendant la période de suivi de 1 an. Dans la littérature, la PA mesurée par un sphygmomanomètre (Calligaris et al., 2013) ou par radio télémétrie (Chantemèle et al., 2011) n'est pas modifiée après un régime HFD d'au minimum 8 mois. Cet état peut s'expliquer par le fait que les souris sous régime HFD vont développer ou non une hypertension en fonction de l'activité du système nerveux sympathique (Chaar et al., 2016). Nous pouvons donc émettre l'hypothèse que les souris HFD présentent une diminution de l'activité du système nerveux sympathique.

Aucune modification n'est également retrouvée au niveau de la FC contrairement à ce qui est montré dans la littérature (Chantemèle et al., 2011; Simonds et al., 2014; Weisbrod et al., 2013).

Ces différentes études ont utilisé comme technique de mesure la radio télémétrie, une méthode précise, mais nous avons fait le choix d'utiliser la méthode de « *tail cuff* », une technique non-invasive permettant la mesure indirecte de la PAS et de la FC (Zhao et al., 2011). Cette technique permet le suivi d'un grand nombre de souris et présente une mortalité moins élevée puisqu'elle ne nécessite pas de chirurgie (Zhao et al., 2011).

Bien que nos souris ne présentent pas de modifications au niveau de la PA et de la FC, nos résultats montrent que la morphologie cardiaque et la fonction cardiaque sont affectées à la fois par le régime HFD et par le vieillissement. Une étude récente a également mis en évidence que le développement d'une obésité modérée sans présence d'hypertension conduit au développement d'une hypertrophie (Koncsos et al., 2016).

Dans notre étude, les souris HFD ont une augmentation de la masse ventriculaire et présentent une hypertrophie à prédominance septale. Un phénotype cardiaque similaire a été observé à la fois dans des modèles animaux (Calligaris et al., 2013) et dans des études humaines (Cuspidi et al., 2014; Rider et al., 2009).

Nous avons constaté que le vieillissement induit une augmentation de la masse du VG à la fois chez les souris ayant reçu un régime HFD et SD. Des études cliniques ont mis en évidence que, chez des sujets âgés sains, le vieillissement conduit à certains changements

structuraux au niveau cardiaque caractérisés par une augmentation de la paroi du ventricule mais pas de la masse ventriculaire (Khouri et al., 2005; Strait and Lakatta, 2012).

Le régime HFD induit des effets plus prononcés sur la géométrie cardiaque avec un épaissement de la paroi septale et une augmentation de la taille de la cavité du VG. Les souris SD présentent uniquement une augmentation de l'épaisseur septale entre 6 et 12 mois de régime.

Le vieillissement entraîne également une altération de la fonction systolique chez les souris HFD puisque celle-ci présentent une diminution à la fois de la fraction d'éjection et de la fraction de raccourcissement. Les souris obèses ont donc plus de risques de développer une dysfonction cardiaque puis une insuffisance cardiaque.

La dilatation du VG, les modifications observées au niveau des parois du ventricule ainsi que la diminution de la fraction d'éjection et de raccourcissement au cours du vieillissement chez les souris HFD, sont le reflet d'une détérioration de la fonction du ventricule.

De par la diminution d'IVRT et de DT au cours du vieillissement chez les souris SD, nous avons confirmé que l'âge est un facteur déterminant de la fonction diastolique (Bryg et al., 1987). Curieusement, le régime HFD n'affecte pas la fonction diastolique. Or, dans la littérature, il a été mis en évidence qu'un régime riche en graisse et en sucre conduisait à une dysfonction diastolique caractérisée par une prolongation d'IVRT, de DT ainsi qu'à une diminution du ratio E/A. (Qin et al., 2012)

La leptine joue un rôle important dans certains paramètres morphologiques et fonctionnels cardiaques. Chez les souris SD, une corrélation positive entre la leptine et la fraction d'éjection et de raccourcissement est retrouvée tandis que chez les souris HFD, la leptine est positivement corrélée avec IVSd. Ainsi, dans notre étude et comme il a déjà été montré dans la littérature (Ghantous et al., 2015; Hall et al., 2015; Perego et al., 2005), la leptine peut être considérée comme un facteur pro-hypertrophique.

J'ai ensuite complété le phénotype des souris en évaluant leur niveau de graisse ainsi que le volume de TAB en utilisant la technique d'IRM, une technique qui a été validée pour ses mesures (Hu et al., 2010; Iris Chen et al., 2013). Nos résultats (diminution du rapport eau/graisse et augmentation du volume de TAB), confirment qu'un régime HFD a une influence sur la masse grasse (Hu et al., 2010).

Je me suis ensuite intéressée à la fonction du tissu adipeux en évaluant le métabolisme du glucose par TEP. J'ai mis en évidence qu'un régime HFD n'affecte pas le métabolisme au niveau du TAB, en condition de thermoneutralité, un état dans lequel l'organisme présente un taux métabolique basal (Cannon and Nedergaard, 2011). Le vieillissement entraîne une modification de l'activité mais uniquement chez les souris ayant reçu un régime SD. Le fait que le régime HFD n'entraîne pas de modifications de l'activité au cours du vieillissement pourrait être expliqué par une diminution de l'activité malgré une augmentation du volume de TAB. Cette idée est supportée à la fois par des études animales et humaines. En effet, dans un modèle animal d'obésité, Wu et al. (Wu et al., 2014), ont montré qu'un régime riche en graisse diminue l'absorption du FDG au niveau du TAB, reflétant ainsi une altération du métabolisme au niveau de ce tissu. De plus, chez l'humain, l'activité du TAB a montré être négativement corrélé avec l'IMC (Pfannenbergl et al., 2010). Malgré le vieillissement, le TAB reste fonctionnel chez les souris SD contrairement à ce qui est retrouvé dans des études humaines (Cypess et al., 2009). Cela peut s'expliquer du fait que nos souris ne sont pas encore assez âgées pour développer une altération du métabolisme.

Au niveau du tissu adipeux blanc, nous avons observés une diminution du métabolisme du glucose chez les souris HFD dès 6 mois de régime qui est maintenue après 12 mois. Cummins et ses collaborateurs ont montré qu'un régime HFD va jouer sur l'expression de gènes et la production de métabolites liés au métabolisme du glucose au niveau du tissu adipeux blanc épидидymal (Cummins et al., 2014). Nous pouvons donc faire l'hypothèse que l'obésité entraîne une altération de ses gènes qui va conduire à une altération du métabolisme au sein de ce tissu.

Le métabolisme du glucose cardiaque ne semble pas être impacté que ce soit par le régime ou le vieillissement. Au niveau du cœur, le glucose va entrer dans les cardiomyocytes par diffusion facilitée en utilisant les transporteurs du glucose : GLUT1 et GLUT4. Le glucose intracellulaire va ainsi être phosphorylé par l'hexokinase en glucose-6-phosphate qui va conduire à la production de pyruvate suite à la glycolyse ou il va pouvoir également être impliqué dans la synthèse de glycogène ou dans la voie des pentoses phosphate (Kolwicz and Tian, 2011). Il a été montré dans différentes études que le métabolisme du glucose était altéré dans des animaux où le cœur était hypertrophié (Leong et al., 2002) et que le profil métabolique ressemblait à celui retrouvé dans le cœur de fœtus c'est-à-dire une préférence pour le glucose comme source d'énergie (Doenst et al., 2010).

Nous avons évalué la rigidité artérielle au niveau de la carotide en utilisant un appareil d'échocardiographie nous permettant de mesurer les changements de diamètre au niveau de la carotide durant le cycle cardiaque. Les deux paramètres mesurés, le « *carotid arterial strain* » et le « *stroke change in lumen area* », ne sont pas différents entre les deux groupes de souris que ce soit après 6 ou 12 mois de régime et ne varient pas au cours du vieillissement. Ainsi, la rigidité artérielle locale ne varie pas. La rigidité a été évaluée par une mesure locale, au niveau de la carotide et non par la mesure de la VOP carotido fémorale qui est le gold standard dans la mesure de la rigidité (Laurent et al., 2006). Cette différence de méthode (étude de la rigidité locale, versus rigidité segmentaire) peut expliquer pourquoi nous n'observons pas de modification de la rigidité artérielle dans notre modèle animal recevant un régime HFD et au cours du vieillissement. Les données de la littérature montrent que chez des sujets obèses, la rigidité artérielle mesurée par la VOP carotido fémorale (VOP segmentaire et non locale) est fortement augmentée en comparaison avec des sujets non obèses. De plus, une corrélation positive est retrouvée entre le degré d'obésité et la VOP carotido fémorale (Toto-Moukoko et al., 1986). Des observations similaires sont retrouvées également dans des modèles animaux. En effet, récemment, Gil-Ortega et al. (Gil-Ortega et al., 2016) a mis en évidence que suite à un régime HFD de 32 semaines, les souris présentent une augmentation de leur rigidité artérielle mesurée en calculant l'index β et la VOP, sans présence d'hypertension.

En complément de l'échocardiographie, la technologie TEP permet également d'évaluer les paramètres fonctionnels cardiaques. Un effet similaire est retrouvé pour la fraction d'éjection entre les 2 techniques puisqu'une diminution au cours du temps a été observée pour ce paramètre. Cette dilatation observée au cours du vieillissement, évaluée par échocardiographie, est confirmée par TEP car on retrouve une augmentation du volume en fin de systole entre 6 et 12 mois de régime avec cette technique. Malgré ces similitudes, les valeurs mesurées par TEP et par échocardiographie ne sont pas identiques. Cette différence de valeurs entre les 2 techniques pourrait être due à un problème de résolution de l'image qui n'est pas similaire entre les deux techniques.

Afin de confirmer le phénotype hypertrophique retrouvé chez les souris HFD et au cours du vieillissement, j'ai évalué l'expression de gènes impliqués dans la fibrose cardiaque et le

vieillissement, de plus nous avons également évalué si l'inflammation était un processus impliqué dans ces observations.

Le régime HFD et le vieillissement n'entraînent pas de modifications de l'expression de gènes inflammatoires au niveau cardiaque. Ainsi notre modèle animal ne développe pas d'inflammation cardiaque. Des observations similaires ont été retrouvées dans d'autres modèles animaux proche du notre. Koncsos et ses collaborateurs (Koncsos et al., 2016) ont induit, de par l'ingestion d'un régime HFD et d'une injection de streptozotocine (un agent diabéto-gène), un pré-diabète (augmentation du taux de glucose, altération de la tolérance au glucose et à l'insuline, augmentation du taux de leptine au niveau plasmatique et au niveau du tissu adipeux viscéral) chez des rats. Ceux-ci n'ont pas présenté de changement dans l'expression des gènes pro-inflammatoire TNF- α ou IL-6. Cela a également été mis en évidence dans un autre modèle de rats où le pré-diabète a été induit par l'ingestion d'un régime riche en sucre (Nunes et al., 2013).

En accord avec ce qui a déjà été montré dans la littérature, le régime HFD induit une régulation à la hausse de certains gènes jouant un rôle dans la fibrose cardiaque (Calligaris et al., 2013). Le remodelage cardiaque observé chez nos souris HFD est confirmé par l'augmentation de l'expression de Col3a1 après 12 mois de régime. De plus, nous confirmons que la leptine peut avoir un effet pro-fibrotique au niveau cardiaque (Zibadi et al., 2011) puisque nous avons montré une forte corrélation entre le taux de leptine plasmatique et l'expression de Col3a1. MMP2 fait partie de la famille des gélatinases, elle est impliquée dans la digestion des collagènes et des gélatines dénaturées. Les MMPs sont également connues pour être exprimées au niveau des cardiomyocytes et promouvoir le remodelage du myocarde (Panek and Bader, 2006; Visse, 2003). En conséquence, l'expression de MMP2 est augmentée chez les souris HFD après 12 mois mais également au cours du vieillissement.

L'expression de Nppb (« *b-type natriuretic peptide* »), également appelé BNP (« *brain natriuretic peptide* »), augmente au cours du vieillissement à la fois chez les souris HFD et SD. Comme nous avons pu le voir précédemment, les deux groupes de souris mais plus particulièrement les souris HFD présentent des signes d'hypertrophie cardiaque au cours du vieillissement. Ce facteur est impliqué dans ce processus puisque son expression est augmentée dans le ventricule de cœur de souris au cours de l'hypertrophie (Sergeeva and Christoffels, 2013).

Un autre gène qui semble être impliqué dans le vieillissement cardiaque est la périostine. La périostine est une protéine de la matrice cellulaire qui joue un rôle important dans le développement et le remodelage cardiaque. Son expression est up-régulée dans les maladies cardiaques et est impliquée dans le vieillissement cardiaque (Zhao et al., 2014). Dans notre étude, une augmentation d'expression de la périostine est observée chez les souris HFD entre 6 et 12 mois de régime. Ainsi, nous confirmons que la périostine peut être impliquée dans le vieillissement cardiaque.

Je me suis ensuite focalisé sur l'expression de GDF11 ou « *Growth differentiation factor 11* » qui fait partie de la famille des TGF- β et qui joue un rôle important dans le développement (Walker et al., 2016). Dans des études cliniques, chez des sujets âgés présentant une sténose aortique sévère, un taux élevé de GDF11 est corrélé avec une prévalence plus élevée de fragilité mis en évidence par une perte de poids, une faible activité ou une démarche lente. Une augmentation du taux de GDF11 a également été associé avec des comorbidités comme le diabète ou une maladie coronarienne (Schafer et al., 2016). Cette étude a également montré que le taux circulant de GDF11 ne diminue pas au cours du vieillissement. D'autres études ont montré des résultats opposés (Loffredo et al., 2013) mais récemment, Glass et al. ont mis en évidence que la méthodologie utilisé ne permettait pas de distinguer GDF11 de la myostatine (Egerman et al., 2015; Glass, 2016), contrairement à la nouvelle technique utilisée par Schafer.

Nous avons observé que, chez les souris obèses, le vieillissement conduit à une augmentation de l'expression du gène GDF11 au niveau du tissu cardiaque qui pourrait être lié à un vieillissement prématuré dû à l'obésité. Dans notre étude, l'expression de GDF11 a été mesurée par PCR en utilisant des primers spécifiques et validés pour ce gène. De plus, notre régime HFD conduisant à des changement métaboliques, l'expression de GDF11 a été normalisée par la β -actine et hprt et non GAPDH car c'est un gène connu pour jouer un rôle important dans le métabolisme (Seidler, 2013).

Dans un contexte d'obésité, GDF11 pourrait être considéré comme un marqueur de vieillissement accéléré et d'exposition aux maladies cardiovasculaires et de fragilité.

CONCLUSIONS GENERALES ET PERSPECTIVES

Dans ce travail de thèse, nous avons montré qu'un régime riche en graisses entraîne des effets délétères tardifs et que le vieillissement amplifie ces observations à la fois sur le plan métabolique et fonctionnel.

Dans le modèle animal murin que nous avons choisi, des souris C57BL6J recevant un régime riche en graisses durant une période de 1 an, nous avons démontré que ce type de régime entraînait des modifications sur le plan métabolique. En effet, le régime a induit : un surpoids, une hyperglycémie mais également une hypercholestérolémie et une hyperleptinémie. Malgré la durée du régime, les animaux n'ont pas présenté d'augmentation du taux d'insuline ou de résistance à l'insuline. Au niveau métabolique, le vieillissement a eu des effets néfastes aussi bien chez les souris ayant reçu un régime riche en graisses que les souris ayant reçu un régime contrôle. Afin de compléter le phénotype des souris, il serait intéressant de doser au niveau plasmatique des facteurs pro- et anti-inflammatoires. Cela nous permettrait d'évaluer si ce type de régime entraîne un dérèglement dans cette balance.

Les troubles métaboliques observés chez les souris ayant reçu un régime riche en graisses, n'ont pas conduits à l'apparition d'une hypertension ou d'une modulation de la fréquence cardiaque. Cependant, nous nous sommes intéressés au phénotype cardiaque à la fois morphologique et fonctionnel de ces souris. Ainsi nous avons démontré que, au cours du temps, les souris présentaient des altérations plus importantes au niveau cardiaque et notamment sur le plan morphologique que les souris ayant reçu un régime contrôle. Ces modifications structurelles étaient caractérisées par une augmentation de la masse du ventricule gauche et une hypertrophie septale. Au cours du vieillissement, le régime riche en graisse a conduit à une hypertrophie du ventricule accompagnée par une altération de la fonction systolique qui n'était pas retrouvée chez les souris ayant reçu un régime contrôle. La fonction diastolique a été altérée uniquement chez les souris contrôle. Nous avons montré qu'une partie de ces effets délétères au niveau cardiaque pouvaient être provoqués par la leptine. En effet, le taux de leptine était augmenté chez les souris sous régime riche en graisses et nous avons retrouvé une corrélation positive entre le taux de leptine plasmatique et l'épaisseur du septum interventriculaire après 12 mois de régime. Ainsi la leptine pourrait être considérée comme un facteur pro-fibrotique. Dans le modèle que nous avons choisi, le régime riche en graisses n'a pas conduit au développement d'une rigidité artérielle. Dans notre étude la rigidité artérielle a été évaluée au niveau local en utilisant la technique d'échocardiographie car nous avons effectué un suivi longitudinal des souris. Peut-être

serait-il bon d'utiliser une autre méthode comme la mesure de la rigidité au niveau régional de par la mesure de la VOP.

Nous avons également voulu étudier la structure et la fonction du tissu adipeux en utilisant 2 techniques d'imagerie, l'IRM et le TEP. Ainsi, comme nous pouvions nous y attendre, nous avons mis en évidence que le régime riche en graisses conduisait à un taux de graisse plus important ainsi qu'un volume de graisse brune augmenté. La technique IRM a uniquement été utilisée afin de mesurer le volume de graisse brune au niveau interscapulaire chez les 2 groupes de souris. Il serait également intéressant d'utiliser cette technique afin d'évaluer le volume de graisse au niveau viscéral chez l'ensemble des souris en utilisant un logiciel qui, après que l'expérimentateur ait délimité les organes et les compartiments intestinaux, permettrait le calcul du volume de graisse. Au niveau fonctionnel, nous avons montré que le régime riche en graisses conduisait uniquement à une altération du métabolisme au niveau de la graisse blanche et ce dès 6 mois de régime. Au niveau de la graisse brune, le métabolisme a seulement été modifié chez les souris sous régime contrôle au cours du vieillissement. Afin de comprendre d'avantage les mécanismes impliqués dans ces observations, il serait intéressant d'étudier l'expression des gènes : (1) Prdm16 impliqué dans la différenciation des pré-adipocytes bruns en adipocytes bruns, (2) Pgc1 α impliqué dans l'activation de la graisse brune et (3) UCP-1 impliqué dans la thermogenèse. Le métabolisme au niveau cardiaque n'a pas été modifié que ce soit par le régime ou le vieillissement.

Nous avons voulu évaluer si le régime riche en graisses et le vieillissement induisaient des modifications de l'expression de gènes impliqués au niveau de l'inflammation, la fibrose cardiaque ainsi que le vieillissement. Nous n'avons montré, au niveau cardiaque, aucune altération de gènes impliqués dans l'inflammation. Cependant, le phénotype morphologique cardiaque retrouvé chez les souris ayant reçu un régime riche en graisse a été confirmé. En effet, le régime a conduit à une augmentation de l'expression de deux gènes connus pour être impliqués dans la fibrose cardiaque, Col3a1 et MMP2. Le vieillissement a induit une up-régulation plus importante de Nppb chez les souris sous régime riche en graisses comparé aux souris sous régime contrôle ainsi qu'une augmentation de l'expression de la périostine qui n'est pas retrouvé chez les souris sous régime contrôle. De plus, comme nous avons pu le montrer au niveau des paramètres morphologiques déterminés par échocardiographie, la leptine semble être un facteur influençant fortement la fibrose tissulaire cardiaque au cours

du vieillissement et avec un régime riche en graisses. En effet, une corrélation positive a été retrouvée entre le taux de leptine plasmatique et l'expression du gène Col3a1 au niveau cardiaque après 12 mois de régime riche en graisses.

Enfin, ce travail montre que le vieillissement associé à un régime riche en graisses précoce conduit également à une up-régulation de GDF11 au niveau tissulaire cardiaque, à l'opposé des souris ayant suivi un régime normal. GDF11 peut alors être considéré comme un marqueur de vieillissement cardiaque accéléré. Par extension, chez l'Homme, GDF11 serait donc un biomarqueur de vieillissement accéléré chez l'obèse et par la même un marqueur de fragilité et d'exposition aux maladies cardiovasculaires (Schafer et al., 2016; Glass, 2016). Ces résultats peuvent suggérer des voies thérapeutiques ou préventives, où l'inhibition de GDF11 améliorerait le pronostic et la survie cardiovasculaire des sujets obèses.

On sait que GDF11 est retrouvé au niveau de la circulation sanguine, ainsi il pourrait être intéressant de déterminer chez nos souris le taux de GDF11 circulant en utilisant par exemple la technique ELISA, afin de déterminer si GDF11 est modifié en condition d'obésité et de vieillissement.

En conclusion, ce travail de thèse nous a permis de mettre en évidence qu'un régime riche en graisses conduit à un vieillissement accéléré au niveau du métabolisme et au niveau cardiaque. Dans le monde, le nombre de sujets obèses a dépassé le nombre de personnes dénutris. De plus, d'ici 2025, un cinquième de la population mondiale aura un indice de masse corporelle supérieur à 30. Récemment, des chercheurs ont montré que l'obésité et le surpoids favoriseraient le vieillissement prématuré du cerveau. Notre travail confirme l'utilité des modèles animaux d'obésité, nous permettant ainsi de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents et de développer de nouvelles thérapies dans le but de lutter contre les effets délétères de l'obésité.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Ahrén B. 1999. Plasma leptin and insulin in C57BI/6J mice on a high-fat diet: relation to subsequent changes in body weight. *Acta Physiol. Scand.* **165**: 233–240.
- Ahrén B., Månsson S., Gingerich R.L. & Havel P.J. 1997. Regulation of plasma leptin in mice: influence of age, high-fat diet, and fasting. *Am. J. Physiol.* **273**: R113-120.
- Akazawa H. & Komuro I. 2003. Roles of cardiac transcription factors in cardiac hypertrophy. *Circ. Res.* **92**: 1079–1088.
- Akbaraly T.N., Kivimaki M., Ancelin M.-L., Barberger-Gateau P., Mura T., Tzourio C., Touchon J., Ritchie K. & Berr C. 2010. Metabolic syndrome, its components, and mortality in the elderly. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **95**: E327-332.
- Aksoy S., Durmuş G., Özcan S., Toprak E., Gurkan U., Oz D., Canga Y., Karatas B. & Duman D. 2014. Is left ventricular diastolic dysfunction independent from presence of hypertension in metabolic syndrome? An echocardiographic study. *J. Cardiol.* **64**: 194–198.
- Antelmi I., de Paula R.S., Shinzato A.R., Peres C.A., Mansur A.J. & Grupi C.J. 2004. Influence of age, gender, body mass index, and functional capacity on heart rate variability in a cohort of subjects without heart disease. *Am. J. Cardiol.* **93**: 381–385.
- Authors/Task Force Members, McMurray J.J.V., Adamopoulos S., Anker S.D., Auricchio A., Bohm M., Dickstein K., Falk V., Filippatos G., Fonseca C., Gomez-Sanchez M.A., Jaarsma T., Kober L., Lip G.Y.H., Maggioni A.P., Parkhomenko A., Pieske B.M., Popescu B.A., Ronnevik P.K., Rutten F.H., Schwitter J., Seferovic P., Stepinska J., Trindade P.T., Voors A.A., Zannad F., Zeiher A., ESC Committee for Practice Guidelines (CPG), Bax J.J., Baumgartner H., Ceconi C., Dean V., Deaton C., Fagard R., Funck-Brentano C., Hasdai D., Hoes A., Kirchhof P., Knuuti J., Kolh P., McDonagh T., Moulin C., Popescu B.A., Reiner Z., Sechtem U., Sirnes P.A., Tendera M., Torbicki A., Vahanian A., Windecker S., Document Reviewers, McDonagh T., Sechtem U., Bonet L.A., Avraamides P., Ben Lamin H.A., Brignole M., Coca A., Cowburn P., Dargie H., Elliott P., Flachskampf F.A., Guida G.F., Hardman S., Jung B., Merkely B., Mueller C., Nanas J.N., Nielsen O.W., Orn S., Parissis J.T. & Ponikowski P. 2012. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur. Heart J.* **33**: 1787–1847.
- Bailey-Downs L.C., Tucsek Z., Toth P., Sosnowska D., Gautam T., Sonntag W.E., Csiszar A. & Ungvari Z. 2013. Aging Exacerbates Obesity-Induced Oxidative Stress and Inflammation in Perivascular Adipose Tissue in Mice: A Paracrine Mechanism Contributing to Vascular Redox Dysregulation and Inflammation. *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.* **68**: 780–792.
- Battistoni A., Rubattu S. & Volpe M. 2012. Circulating biomarkers with preventive, diagnostic and prognostic implications in cardiovascular diseases. *Int. J. Cardiol.* **157**: 160–168.

- Baur J.A., Pearson K.J., Price N.L., Jamieson H.A., Lerin C., Kalra A., Prabhu V.V., Allard J.S., Lopez-Lluch G., Lewis K., Pistell P.J., Poosala S., Becker K.G., Boss O., Gwinn D., Wang M., Ramaswamy S., Fishbein K.W., Spencer R.G., Lakatta E.G., Le Couteur D., Shaw R.J., Navas P., Puigserver P., Ingram D.K., de Cabo R. & Sinclair D.A. 2006. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature*. **444**: 337–342.
- Belmin J. & Tedgui A. 1993. Le vieillissement de la paroi artérielle. .
- Benetos A. 2002. Determinants of Accelerated Progression of Arterial Stiffness in Normotensive Subjects and in Treated Hypertensive Subjects Over a 6-Year Period. *Circulation*. **105**: 1202–1207.
- Benetos A., Buatois S., Salvi P., Marino F., Toulza O., Dubail D., Manckoundia P., Valbusa F., Rolland Y., Hanon O., Gautier S., Miljkovic D., Guillemin F., Zamboni M., Labat C. & Perret-Guillaume C. 2010. Blood pressure and pulse wave velocity values in the institutionalized elderly aged 80 and over: baseline of the PARTAGE study. *J. Hypertens*. **28**: 41–50.
- Benetos A., Rossignol P., Cherubini A., Joly L., Grodzicki T., Rajkumar C., Strandberg T.E. & Petrovic M. 2015. Polypharmacy in the Aging Patient: Management of Hypertension in Octogenarians. *JAMA*. **314**: 170–180.
- Bochud M., Marquant F., Marques-Vidal P.-M., Vollenweider P., Beckmann J.S., Mooser V., Paccaud F. & Rousson V. 2009. Association between C-reactive protein and adiposity in women. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. **94**: 3969–3977.
- Bogers R.P., Bemelmans W.J.E., Hoogenveen R.T., Boshuizen H.C., Woodward M., Knekt P., van Dam R.M., Hu F.B., Visscher T.L.S., Menotti A., Thorpe R.J., Jamrozik K., Calling S., Strand B.H., Shipley M.J. & BMI-CHD Collaboration Investigators 2007. Association of overweight with increased risk of coronary heart disease partly independent of blood pressure and cholesterol levels: a meta-analysis of 21 cohort studies including more than 300 000 persons. *Arch. Intern. Med*. **167**: 1720–1728.
- Bremer A.A., Devaraj S., Afify A. & Jialal I. 2011. Adipose Tissue Dysregulation in Patients with Metabolic Syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. **96**: E1782–E1788.
- Brinkley T.E., Hsu F.-C., Beavers K.M., Church T.S., Goodpaster B.H., Stafford R.S., Pahor M., Kritchevsky S.B. & Nicklas B.J. 2012. Total and Abdominal Adiposity Are Associated With Inflammation in Older Adults Using a Factor Analysis Approach. *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci*. **67**: 1099–1106.
- Bryg R.J., Williams G.A. & Labovitz A.J. 1987. Effect of aging on left ventricular diastolic filling in normal subjects. *Am. J. Cardiol*. **59**: 971–974.
- Buettner R., Schölmerich J. & Bollheimer L.C. 2007. High-fat Diets: Modeling the Metabolic Disorders of Human Obesity in Rodents. *Obesity*. **15**: 798–808.
- Calle E.E., Thun M.J., Petrelli J.M., Rodriguez C. & Heath Jr C.W. 1999. Body-mass index and mortality in a prospective cohort of US adults. *N. Engl. J. Med*. **341**: 1097–1105.

- Calligaris S.D., Lecanda M., Solis F., Ezquer M., Gutiérrez J., Brandan E., Leiva A., Sobrevia L. & Conget P. 2013. Mice Long-Term High-Fat Diet Feeding Recapitulates Human Cardiovascular Alterations: An Animal Model to Study the Early Phases of Diabetic Cardiomyopathy. *PLoS ONE*. **8**: e60931.
- Cannon B. & Nedergaard J. 2011. Nonshivering thermogenesis and its adequate measurement in metabolic studies. *J. Exp. Biol.* **214**: 242–253.
- Cevenini E., Monti D. & Franceschi C. 2013. Inflamm-ageing. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* **16**: 14–20.
- Chaar L.J., Coelho A., Silva N.M., Festuccia W.L. & Antunes V.R. 2016. High-fat diet-induced hypertension and autonomic imbalance are associated with an upregulation of CART in the dorsomedial hypothalamus of mice. *Physiol. Rep.* **4**: e12811.
- Chantemèle E.J.B. de, Mintz J.D., Rainey W.E. & Stepp D.W. 2011. Impact of Leptin-Mediated Sympatho-Activation on Cardiovascular Function in Obese Mice. *Hypertension.* **58**: 271–279.
- Chen Y.I., Cypess A.M., Sass C.A., Brownell A.-L., Jokivarsi K.T., Kahn C.R. & Kwong K.K. 2012. Anatomical and Functional Assessment of Brown Adipose Tissue by Magnetic Resonance Imaging. *Obesity.* **20**: 1519–1526.
- Cruickshank K. 2002. Aortic Pulse-Wave Velocity and Its Relationship to Mortality in Diabetes and Glucose Intolerance: An Integrated Index of Vascular Function?. *Circulation.* **106**: 2085–2090.
- Cummins T.D., Holden C.R., Sansbury B.E., Gibb A.A., Shah J., Zafar N., Tang Y., Hellmann J., Rai S.N., Spite M., Bhatnagar A. & Hill B.G. 2014. Metabolic remodeling of white adipose tissue in obesity. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **307**: E262-277.
- Cuspidi C., Rescaldani M., Sala C. & Grassi G. 2014. Left-ventricular hypertrophy and obesity: a systematic review and meta-analysis of echocardiographic studies. *J. Hypertens.* **32**: 16–25.
- Cypess A.M., Lehman S., Williams G., Tal I., Rodman D., Goldfine A.B., Kuo F.C., Palmer E.L., Tseng Y.-H., Doria A. & others 2009. Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. *N. Engl. J. Med.* **360**: 1509–1517.
- Dahl A.K. & Hassing L.B. 2013. Obesity and Cognitive Aging. *Epidemiol. Rev.* **35**: 22–32.
- De la Fuente M. & Miquel J. 2009. An update of the oxidation-inflammation theory of aging: the involvement of the immune system in oxi-inflamm-aging. *Curr. Pharm. Des.* **15**: 3003–3026.
- Després J.-P. 2006. Abdominal obesity: the most prevalent cause of the metabolic syndrome and related cardiometabolic risk. *Eur. Heart J. Suppl.* **8**: B4–B12.
- Doenst T., Pytel G., Schrepper A., Amorim P., Färber G., Shingu Y., Mohr F.W. & Schwarzer M. 2010. Decreased rates of substrate oxidation ex vivo predict the onset

of heart failure and contractile dysfunction in rats with pressure overload. *Cardiovasc. Res.* **86**: 461–470.

- Egerman M.A., Cadena S.M., Gilbert J.A., Meyer A., Nelson H.N., Swalley S.E., Mallozzi C., Jacobi C., Jennings L.L., Clay I., Laurent G., Ma S., Brachat S., Lach-Trifilieff E., Shavlakadze T., Trendelenburg A.-U., Brack A.S. & Glass D.J. 2015. GDF11 Increases with Age and Inhibits Skeletal Muscle Regeneration. *Cell Metab.* **22**: 164–174.
- Fain J.N. 2006. Release of Interleukins and Other Inflammatory Cytokines by Human Adipose Tissue Is Enhanced in Obesity and Primarily due to the Nonfat Cells. pp. 443–477. *Vitamins & Hormones*, Elsevier,
- Fain J.N., Madan A.K., Hiler M.L., Cheema P. & Bahouth S.W. 2004. Comparison of the Release of Adipokines by Adipose Tissue, Adipose Tissue Matrix, and Adipocytes from Visceral and Subcutaneous Abdominal Adipose Tissues of Obese Humans. *Endocrinology.* **145**: 2273–2282.
- Feldmann H.M., Golozoubova V., Cannon B. & Nedergaard J. 2009. UCP1 ablation induces obesity and abolishes diet-induced thermogenesis in mice exempt from thermal stress by living at thermoneutrality. *Cell Metab.* **9**: 203–209.
- Finucane M.M., Stevens G.A., Cowan M.J., Danaei G., Lin J.K., Paciorek C.J., Singh G.M., Gutierrez H.R., Lu Y., Bahalim A.N., Farzadfar F., Riley L.M., Ezzati M. & Global Burden of Metabolic Risk Factors of Chronic Diseases Collaborating Group (Body Mass Index) 2011. National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9.1 million participants. *Lancet Lond. Engl.* **377**: 557–567.
- Fischer M. 2003. Prevalence of left ventricular diastolic dysfunction in the community Results from a Doppler echocardiographic-based survey of a population sample. *Eur. Heart J.* **24**: 320–328.
- Fleg J.L., O'Connor F., Gerstenblith G., Becker L.C., Clulow J., Schulman S.P. & Lakatta E.G. 1995. Impact of age on the cardiovascular response to dynamic upright exercise in healthy men and women. *J. Appl. Physiol. Bethesda Md* 1985. **78**: 890–900.
- Flegal K.M., Kit B.K., Orpana H. & Graubard B.I. 2013. Association of All-Cause Mortality With Overweight and Obesity Using Standard Body Mass Index Categories: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA.* **309**: 71.
- Fuentes L. d. I., Brown A.L., Mathews S.J., Waggoner A.D., Soto P.F., Gropler R.J. & Davila-Roman V.G. 2006. Metabolic syndrome is associated with abnormal left ventricular diastolic function independent of left ventricular mass. *Eur. Heart J.* **28**: 553–559.
- Gallou-Kabani C., Vigé A., Gross M.-S., Rabès J.-P., Boileau C., Larue-Achagiotis C., Tomé D., Jais J.-P. & Junien C. 2007. C57BL/6J and A/J Mice Fed a High-Fat Diet Delineate Components of Metabolic Syndrome. *Obesity.* **15**: 1996–2005.

- Gerstenblith G., Frederiksen J., Yin F.C.P., Fortuin N.J.M.D. & Lakatta E.G.M.D. 1977. Echocardiographic Assessment of a Normal Adult Aging Population. *Circulation*. **56**: 273–278.
- Ghantous C.M., Azrak Z., Hanache S., Abou-Kheir W. & Zeidan A. 2015. Differential Role of Leptin and Adiponectin in Cardiovascular System. *Int. J. Endocrinol.* **2015**: .
- Gil-Ortega M., Martín-Ramos M., Arribas S.M., González M.C., Aránguez I., Ruiz-Gayo M., Somoza B. & Fernández-Alfonso M.S. 2016. Arterial stiffness is associated with adipokine dysregulation in non-hypertensive obese mice. *Vascul. Pharmacol.* **77**: 38–47.
- Glass D.J. 2016. Elevated GDF11 Is a Risk Factor for Age-Related Frailty and Disease in Humans. *Cell Metab.* **24**: 7–8.
- Guasch-Ferre M., Babio N., Martínez-González M.A., Corella D., Ros E., Martín-Pelaez S., Estruch R., Aros F., Gómez-Gracia E., Fiol M., Santos-Lozano J.M., Serra-Majem L., Bullo M., Toledo E., Barragan R., Fito M., Gea A., Salas-Salvado J. & for the PREDIMED Study Investigators 2015. Dietary fat intake and risk of cardiovascular disease and all-cause mortality in a population at high risk of cardiovascular disease. *Am. J. Clin. Nutr.* **102**: 1563–1573.
- Hall M.E., Harmancey R. & Stec D.E. 2015. Lean heart: Role of leptin in cardiac hypertrophy and metabolism. *World J. Cardiol.* **7**: 511–524.
- Hamann A., Flier J.S. & Lowell B.B. 1998. Obesity after genetic ablation of brown adipose tissue. *Z. Für Ernährungswissenschaft.* **37 Suppl 1**: 1–7.
- Hamilton G., Smith D.L., Bydder M., Nayak K.S. & Hu H.H. 2011. MR properties of brown and white adipose tissues. *J. Magn. Reson. Imaging.* **34**: 468–473.
- Harms M. & Seale P. 2013. Brown and beige fat: development, function and therapeutic potential. *Nat. Med.* **19**: 1252–1263.
- Hayashidani S., Tsutsui H., Ikeuchi M., Shiomi T., Matsusaka H., Kubota T., Imanaka-Yoshida K., Itoh T. & Takeshita A. 2003. Targeted deletion of MMP-2 attenuates early LV rupture and late remodeling after experimental myocardial infarction. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **285**: H1229-1235.
- van der Heijden R.A., Sheedfar F., Morrison M.C., Hommelberg P.H., Kor D., Kloosterhuis N.J., Gruben N., Youssef S.A., de Bruin A., Hofker M.H. & others 2015. High-fat diet induced obesity primes inflammation in adipose tissue prior to liver in C57BL/6j mice. *Aging.* **7**: 256–68.
- Henry R.M.A. 2003. Arterial Stiffness Increases With Deteriorating Glucose Tolerance Status: The Hoorn Study. *Circulation.* **107**: 2089–2095.
- Hirosumi J., Tuncman G., Chang L., Görgün C.Z., Uysal K.T., Maeda K., Karin M. & Hotamisligil G.S. 2002. A central role for JNK in obesity and insulin resistance. *Nature.* **420**: 333–336.

- Hu H.H., Smith D.L., Nayak K.S., Goran M.I. & Nagy T.R. 2010. Identification of brown adipose tissue in mice with fat-water IDEAL-MRI. *J. Magn. Reson. Imaging.* **31**: 1195–1202.
- Iris Chen Y.-C., Cypess A.M., Chen Y.-C., Palmer M., Kolodny G., Kahn C.R. & Kwong K.K. 2013. Measurement of Human Brown Adipose Tissue Volume and Activity Using Anatomical MRI and Functional MRI. *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **54**: 1584–1587.
- Jeanguillaume C., Metrard G., Ricquier D., Legras P., Bouchet F., Lacoeyille F., Hindre F., Morel O. & Rakotonirina H. 2013. Visualization of Activated BAT in Mice, with FDG-PET and Its Relation to UCP1. *Adv. Mol. Imaging.* **3**: 19–22.
- Joly L., Lambert D. & Bénétos A. 2015. Cas clinique commenté de prise en charge d'hypertension artérielle chez le patient octogénaire « fragile ». *Arch. Mal. Coeur Vaiss. - Prat.* **2015**: 14–17.
- Kennedy A.J., Ellacott K.L.J., King V.L. & Hasty A.H. 2010. Mouse models of the metabolic syndrome. *Dis. Model. Mech.* **3**: 156–166.
- Khoury M.G., Maurer M.S. & El-Khoury Rumbarger L. 2005. Assessment of age-related changes in left ventricular structure and function by freehand three-dimensional echocardiography. *Am. J. Geriatr. Cardiol.* **14**: 118–125.
- Kim F., Pham M., Maloney E., Rizzo N.O., Morton G.J., Wisse B.E., Kirk E.A., Chait A. & Schwartz M.W. 2008. Vascular Inflammation, Insulin Resistance, and Reduced Nitric Oxide Production Precede the Onset of Peripheral Insulin Resistance. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **28**: 1982–1988.
- Kolwicz S.C. & Tian R. 2011. Glucose metabolism and cardiac hypertrophy. *Cardiovasc. Res.* **90**: 194–201.
- Lacolley P., Babuty D., Boulanger C., Ghaleh B., Loirand G., Pinet F. & Samuel J.-L. 2007. *Biologie et pathologie du coeur et des vaisseaux.* John Libbey Eurotext, 1396 pp.
- Lakatta E.G. & Levy D. 2003. Arterial and Cardiac Aging: Major Shareholders in Cardiovascular Disease Enterprises. *Circulation.* **107**: 139–146.
- Laurent S., Boutouyrie P., Asmar R., Gautier I., Laloux B., Guize L., Ducimetiere P. & Benetos A. 2001. Aortic Stiffness Is an Independent Predictor of All-Cause and Cardiovascular Mortality in Hypertensive Patients. *Hypertension.* **37**: 1236–1241.
- Laurent S., Cockcroft J., Bortel L.V., Boutouyrie P., Giannattasio C., Hayoz D., Pannier B., Vlachopoulos C., Wilkinson I. & Struijker-Boudier H. 2006. Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. *Eur. Heart J.* **27**: 2588–2605.
- Laurent S., Katsahian S., Fassot C., Tropeano A.-I., Gautier I., Laloux B. & Boutouyrie P. 2003. Aortic Stiffness Is an Independent Predictor of Fatal Stroke in Essential Hypertension. *Stroke.* **34**: 1203–1206.

- Laurent S., Mousseaux E. & Boutouyrie P. 2013. Arterial Stiffness as an Imaging Biomarker: Are All Pathways Equal?. *Hypertension*. **62**: 10–12.
- Lavie C.J., De Schutter A., Parto P., Jahangir E., Kokkinos P., Ortega F.B., Arena R. & Milani R.V. 2016. Obesity and Prevalence of Cardiovascular Diseases and Prognosis—The Obesity Paradox Updated. *Prog. Cardiovasc. Dis.* **58**: 537–547.
- Lavie C.J., Milani R.V. & Ventura H.O. 2009. Obesity and Cardiovascular Disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* **53**: 1925–1932.
- Lee D., Hwang W., Artan M., Jeong D.-E. & Lee S.-J. 2015. Effects of nutritional components on aging. *Aging Cell.* **14**: 8–16.
- Leong H.S., Grist M., Parsons H., Wambolt R.B., Lopaschuk G.D., Brownsey R. & Allard M.F. 2002. Accelerated rates of glycolysis in the hypertrophied heart: are they a methodological artifact?. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **282**: E1039-1045.
- Levy D., Anderson K.M., Savage D.D., Kannel W.B., Christiansen J.C. & Castelli W.P. 1988. Echocardiographically detected left ventricular hypertrophy: prevalence and risk factors. The Framingham Heart Study. *Ann. Intern. Med.* **108**: 7–13.
- Levy D., Garrison R.J., Savage D.D., Kannel W.B. & Castelli W.P. 1990. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. *N. Engl. J. Med.* **322**: 1561–1566.
- Linzbach A.J. & Akuamo-Boateng E. 1973. [Changes in the aging human heart. I. Heart weight in the aged]. *Klin. Wochenschr.* **51**: 156–163.
- Loffredo F.S., Steinhauser M.L., Jay S.M., Gannon J., Pancoast J.R., Yalamanchi P., Sinha M., Dall’Osso C., Khong D., Shadrach J.L., Miller C.M., Singer B.S., Stewart A., Psychogios N., Gerszten R.E., Hartigan A.J., Kim M.-J., Serwold T., Wagers A.J. & Lee R.T. 2013. Growth Differentiation Factor 11 is a Circulating Factor that Reverses Age-Related Cardiac Hypertrophy. *Cell.* **153**: 828–839.
- Lowell B.B., S-Susulic V., Hamann A., Lawitts J.A., Himms-Hagen J., Boyer B.B., Kozak L.P. & Flier J.S. 1993. Development of obesity in transgenic mice after genetic ablation of brown adipose tissue. *Nature.* **366**: 740–742.
- Lumeng C.N., Bodzin J.L. & Saltiel A.R. 2007. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J. Clin. Invest.* **117**: 175–184.
- Lutz T.A. & Woods S.C. 2012. Overview of Animal Models of Obesity. *Curr. Protoc. Pharmacol.* Editor. Board SJ Enna Ed.--Chief Al. **CHAPTER**: Unit5.61.
- Mancia G., Fagard R., Narkiewicz K., Redón J., Zanchetti A., Böhm M., Christiaens T., Cifkova R., De Backer G., Dominiczak A., Galderisi M., Grobbee D.E., Jaarsma T., Kirchhof P., Kjeldsen S.E., Laurent S., Manolis A.J., Nilsson P.M., Ruilope L.M., Schmieder R.E., Sirnes P.A., Sleight P., Viigimaa M., Waeber B., Zannad F. & Task Force Members 2013. 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the management of arterial hypertension of the

European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *J. Hypertens.* **31**: 1281–1357.

- Marie P.-Y., Djaballah W., Franken P.R., Vanhove C., Muller M.A., Boutley H., Poussier S., Olivier P., Karcher G. & Bertrand A. 2005. OSEM reconstruction, associated with temporal fourier and depth-dependant resolution recovery filtering, enhances results from sestamibi and 201Tl 16-interval gated SPECT. *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **46**: 1789–1795.
- Masiha S., Sundström J. & Lind L. 2012. Inflammatory markers are associated with left ventricular hypertrophy and diastolic dysfunction in a population-based sample of elderly men and women. *J. Hum. Hypertens.* **27**: 13–17.
- Maskali F., Poussier S., Louis H., Boutley H., Lhuillier M., Thornton S.N., Karcher G., Lacolley P. & Marie P.Y. 2014. Assessment of the early stage of cardiac remodeling of spontaneously hypertensive heart failure rats using the quantitative 3-dimensional analysis provided by acipimox-enhanced FDG-PET. *Int. J. Cardiovasc. Imaging.* **30**: 449–456.
- Masugata H., Senda S., Goda F., Yoshihara Y., Yoshikawa K., Fujita N., Daikuhara H., Nakamura H., Taoka T. & Kohno M. 2006. Left ventricular diastolic dysfunction as assessed by echocardiography in metabolic syndrome. *Hypertens. Res. Off. J. Jpn. Soc. Hypertens.* **29**: 897–903.
- Matsubara J., Sugiyama S., Nozaki T., Sugamura K., Konishi M., Ohba K., Matsuzawa Y., Akiyama E., Yamamoto E., Sakamoto K., Nagayoshi Y., Kaikita K., Sumida H., Kim-Mitsuyama S. & Ogawa H. 2011. Pentraxin 3 Is a New Inflammatory Marker Correlated With Left Ventricular Diastolic Dysfunction and Heart Failure With Normal Ejection Fraction. *J. Am. Coll. Cardiol.* **57**: 861–869.
- Matsusaka H., Ide T., Matsushima S., Ikeuchi M., Kubota T., Sunagawa K., Kinugawa S. & Tsutsui H. 2006. Targeted Deletion of Matrix Metalloproteinase 2 Ameliorates Myocardial Remodeling in Mice With Chronic Pressure Overload. *Hypertension.* **47**: 711–717.
- Matsuzawa-Nagata N., Takamura T., Ando H., Nakamura S., Kurita S., Misu H., Ota T., Yokoyama M., Honda M., Miyamoto K. & Kaneko S. 2008. Increased oxidative stress precedes the onset of high-fat diet-induced insulin resistance and obesity. *Metabolism.* **57**: 1071–1077.
- McDonald R.B. & Horwitz B.A. 1999. Brown adipose tissue thermogenesis during aging and senescence. *J. Bioenerg. Biomembr.* **31**: 507–516.
- McNeill A.M., Katz R., Girman C.J., Rosamond W.D., Wagenknecht L.E., Barzilay J.I., Tracy R.P., Savage P.J. & Jackson S.A. 2006. Metabolic Syndrome and Cardiovascular Disease in Older People: The Cardiovascular Health Study: METABOLIC SYNDROME IN OLDER PEOPLE. *J. Am. Geriatr. Soc.* **54**: 1317–1324.

- Mirbolooki M.R., Upadhyay S.K., Constantinescu C.C., Pan M.-L. & Mukherjee J. 2014. Adrenergic pathway activation enhances brown adipose tissue metabolism: A [18F]FDG PET/CT study in mice. *Nucl. Med. Biol.* **41**: 10–16.
- Monteiro R. & Azevedo I. 2010. Chronic Inflammation in Obesity and the Metabolic Syndrome. *Mediators Inflamm.* **2010**: 1–10.
- Muller A.P., de Oliveira Dietrich M., de Assis A.M., Souza D.O. & Portela L.V. 2013. High saturated fat and low carbohydrate diet decreases lifespan independent of body weight in mice. *Longev. Heal.* **2**: 1.
- Ng M., Fleming T., Robinson M., Thomson B., Graetz N., Margono C., Mullany E.C., Biryukov S., Abbafati C., Abera S.F., Abraham J.P., Abu-Rmeileh N.M.E., Achoki T., AlBuhairan F.S., Alemu Z.A., Alfonso R., Ali M.K., Ali R., Guzman N.A., Ammar W., Anwar P., Banerjee A., Barquera S., Basu S., Bennett D.A., Bhutta Z., Blore J., Cabral N., Nonato I.C., Chang J.-C., Chowdhury R., Courville K.J., Criqui M.H., Cundiff D.K., Dabhadkar K.C., Dandona L., Davis A., Dayama A., Dharmaratne S.D., Ding E.L., Durrani A.M., Esteghamati A., Farzadfar F., Fay D.F.J., Feigin V.L., Flaxman A., Forouzanfar M.H., Goto A., Green M.A., Gupta R., Hafezi-Nejad N., Hankey G.J., Harewood H.C., Havmoeller R., Hay S., Hernandez L., Husseini A., Idrisov B.T., Ikeda N., Islami F., Jahangir E., Jassal S.K., Jee S.H., Jeffreys M., Jonas J.B., Kabagambe E.K., Khalifa S.E.A.H., Kengne A.P., Khader Y.S., Khang Y.-H., Kim D., Kimokoti R.W., Kinge J.M., Kokubo Y., Kosen S., Kwan G., Lai T., Leinsalu M., Li Y., Liang X., Liu S., Logroscino G., Lotufo P.A., Lu Y., Ma J., Mainoo N.K., Mensah G.A., Merriman T.R., Mokdad A.H., Moschandreas J., Naghavi M., Naheed A., Nand D., Narayan K.M.V., Nelson E.L., Neuhouser M.L., Nisar M.I., Ohkubo T., Oti S.O., Pedroza A., Prabhakaran D., Roy N., Sampson U., Seo H., Sepanlou S.G., Shibuya K., Shiri R., Shiue I., Singh G.M., Singh J.A., Skirbekk V., Stapelberg N.J.C., Sturua L., Sykes B.L., Tobias M., Tran B.X., Trasande L., Toyoshima H., van de Vijver S., Vasankari T.J., Veerman J.L., Velasquez-Melendez G., Vlassov V.V., Vollset S.E., Vos T., Wang C., Wang X., Weiderpass E., Werdecker A., Wright J.L., Yang Y.C., Yatsuya H., Yoon J., Yoon S.-J., Zhao Y., Zhou M., Zhu S., Lopez A.D., Murray C.J.L. & Gakidou E. 2014. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *The Lancet.* **384**: 766–781.
- Niemann B., Chen Y., Teschner M., Li L., Silber R.-E. & Rohrbach S. 2011. Obesity Induces Signs of Premature Cardiac Aging in Younger Patients. *J. Am. Coll. Cardiol.* **57**: 577–585.
- Nijhuis J., Rensen S.S., Slaats Y., van Dielen F.M.H., Buurman W.A. & Greve J.W.M. 2009. Neutrophil activation in morbid obesity, chronic activation of acute inflammation. *Obes. Silver Spring Md.* **17**: 2014–2018.
- Nishikawa J., Ohtake T., Yokoyama I., Watanabe T., Momose T. & Sasaki Y. 1996. Simple method to quantify myocardial glucose metabolism from MB ratio in myocardial FDG PET. *Ann. Nucl. Med.* **10**: 323–328.
- North B.J. & Sinclair D.A. 2012. The Intersection Between Aging and Cardiovascular Disease. *Circ. Res.* **110**: 1097–1108.

- Oka T., Xu J., Kaiser R.A., Melendez J., Hambleton M., Sargent M.A., Lorts A., Brunskill E.W., Dorn G.W., Conway S.J., Aronow B.J., Robbins J. & Molkentin J.D. 2007. Genetic manipulation of periostin expression reveals a role in cardiac hypertrophy and ventricular remodeling. *Circ. Res.* **101**: 313–321.
- Olivetti G., Melissari M., Capasso J.M. & Anversa P. 1991. Cardiomyopathy of the aging human heart. Myocyte loss and reactive cellular hypertrophy. *Circ. Res.* **68**: 1560–1568.
- O'Rourke M. 1990. Arterial stiffness, systolic blood pressure, and logical treatment of arterial hypertension. *Hypertension.* **15**: 339–347.
- Osherovich L. 2013. Shrinking old hearts. *Sci.-Bus. Exch.* **6**: .
- Panek A.N. & Bader M. 2006. Matrix reloaded: the matrix metalloproteinase paradox. *Hypertens. Dallas Tex* 1979. **47**: 640–641.
- Patel C., Ghanim H., Ravishankar S., Sia C.L., Viswanathan P., Mohanty P. & Dandona P. 2007. Prolonged Reactive Oxygen Species Generation and Nuclear Factor- κ B Activation after a High-Fat, High-Carbohydrate Meal in the Obese. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **92**: 4476–4479.
- Perego L., Pizzocri P., Corradi D., Maisano F., Paganelli M., Fiorina P., Barbieri M., Morabito A., Paolisso G., Folli F. & Pontiroli A.E. 2005. Circulating leptin correlates with left ventricular mass in morbid (grade III) obesity before and after weight loss induced by bariatric surgery: a potential role for leptin in mediating human left ventricular hypertrophy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **90**: 4087–4093.
- Pfannenbergh C., Werner M.K., Ripkens S., Stef I., Deckert A., Schmadl M., Reimold M., Haring H.-U., Claussen C.D. & Stefan N. 2010. Impact of Age on the Relationships of Brown Adipose Tissue With Sex and Adiposity in Humans. *Diabetes.* **59**: 1789–1793.
- Poggioli T., Vujic A., Yang P., Macias-Trevino C., Uygur A., Loffredo F.S., Pancoast J.R., Cho M., Goldstein J., Tandias R.M., Gonzalez E., Walker R.G., Thompson T.B., Wagers A.J., Fong Y.W. & Lee R.T. 2016. Circulating Growth Differentiation Factor 11/8 Levels Decline With Age. *Circ. Res.* **118**: 29–37.
- Police S.B., Thatcher S.E., Charnigo R., Daugherty A. & Cassis L.A. 2009. Obesity Promotes Inflammation in Periaortic Adipose Tissue and Angiotensin II-Induced Abdominal Aortic Aneurysm Formation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **29**: 1458–1464.
- Popkin B.M., Adair L.S. & Ng S.W. 2012. NOW AND THEN: The Global Nutrition Transition: The Pandemic of Obesity in Developing Countries. *Nutr. Rev.* **70**: 3–21.
- Poussier S., Maskali F., Tran N., Person C., Maureira P., Boutley H., Karcher G., Lacolley P., Régnault V., Fay R. & Marie P.Y. 2010. ECG-triggered 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography imaging of the rat heart is dramatically enhanced by acipimox. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* **37**: 1745–1750.

- Prakash K.N.B., Verma S.K., Yaligar J., Goggi J., Gopalan V., Lee S.S., Tian X., Sugii S., Leow M.K.S., Bhakoo K. & Velan S.S. 2016. Segmentation and characterization of interscapular brown adipose tissue in rats by multi-parametric magnetic resonance imaging. *Magn. Reson. Mater. Phys. Biol. Med.* **29**: 277–286.
- Qin F., Siwik D.A., Luptak I., Hou X., Wang L., Higuchi A., Weisbrod R.M., Ouchi N., Tu V.H., Calamaras T.D., Miller E.J., Verbeuren T.J., Walsh K., Cohen R.A. & Colucci W.S. 2012. The Polyphenols Resveratrol and S17834 Prevent the Structural and Functional Sequelae of Diet-Induced Metabolic Heart Disease in Mice. *Circulation.* **125**: 1757–1764.
- Ram R., Mickelsen D.M., Theodoropoulos C. & Blaxall B.C. 2011. New approaches in small animal echocardiography: imaging the sounds of silence. *AJP Heart Circ. Physiol.* **301**: H1765–H1780.
- Reference Values for Arterial Stiffness' Collaboration 2010. Determinants of pulse wave velocity in healthy people and in the presence of cardiovascular risk factors: “establishing normal and reference values.” *Eur. Heart J.* **31**: 2338–2350.
- Rider O.J., Francis J.M., Ali M.K., Byrne J., Clarke K., Neubauer S. & Petersen S.E. 2009. Determinants of left ventricular mass in obesity; a cardiovascular magnetic resonance study. *J. Cardiovasc. Magn. Reson.* **11**: 9.
- Rodondi N., Marques-Vidal P., Butler J., Sutton-Tyrrell K., Cornuz J., Satterfield S., Harris T., Bauer D.C., Ferrucci L., Vittinghoff E. & Newman A.B. 2010. Markers of Atherosclerosis and Inflammation for Prediction of Coronary Heart Disease in Older Adults. *Am. J. Epidemiol.* **171**: 540–549.
- Ronan L., Alexander-Bloch A.F., Wagstyl K., Farooqi S., Brayne C., Tyler L.K. & Fletcher P.C. 2016. Obesity associated with increased brain age from midlife. *Neurobiol. Aging.* **47**: 63–70.
- Safar M.E., Thomas F., Blacher J., Nzietchueng R., Bureau J.-M., Pannier B. & Benetos A. 2006. Metabolic Syndrome and Age-Related Progression of Aortic Stiffness. *J. Am. Coll. Cardiol.* **47**: 72–75.
- Salminen A., Kauppinen A., Suuronen T. & Kaarniranta K. 2008. SIRT1 longevity factor suppresses NF-kappaB -driven immune responses: regulation of aging via NF-kappaB acetylation?. *BioEssays News Rev. Mol. Cell. Dev. Biol.* **30**: 939–942.
- Salvi P., Lio G., Labat C., Ricci E., Pannier B. & Benetos A. 2004. Validation of a new non-invasive portable tonometer for determining arterial pressure wave and pulse wave velocity: the PulsePen device. *J. Hypertens.* **22**: 2285–2293.
- Salvi P., Magnani E., Valbusa F., Agnoletti D., Alecu C., Joly L. & Benetos A. 2008. Comparative study of methodologies for pulse wave velocity estimation. *J. Hum. Hypertens.* **22**: 669–677.
- Schaefer W.M., Lipke C.S.A., Nowak B., Kaiser H.J., Buecker A., Krombach G.A., Buell U. & Kühl H.P. 2003. Validation of an evaluation routine for left ventricular volumes, ejection fraction and wall motion from gated cardiac FDG PET: a

- comparison with cardiac magnetic resonance imaging. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* **30**: 545–553.
- Schafer M.J., Atkinson E.J., Vanderboom P.M., Kotajarvi B., White T.A., Moore M.M., Bruce C.J., Greason K.L., Suri R.M., Khosla S., Miller J.D., Bergen H.R. & LeBrasseur N.K. 2016. Quantification of GDF11 and Myostatin in Human Aging and Cardiovascular Disease. *Cell Metab.* **23**: 1207–1215.
- Seidler N.W. 2013. GAPDH and intermediary metabolism. *Adv. Exp. Med. Biol.* **985**: 37–59.
- Sergeeva I.A. & Christoffels V.M. 2013. Regulation of expression of atrial and brain natriuretic peptide, biomarkers for heart development and disease. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Basis Dis.* **1832**: 2403–2413.
- Sheikine Y. & Akram K. 2010. FDG–PET imaging of atherosclerosis: Do we know what we see?. *Atherosclerosis.* **211**: 371–380.
- Shoelson S.E., Lee J. & Yuan M. 2003. Inflammation and the IKK β /I κ B/NF- κ B axis in obesity- and diet-induced insulin resistance. *Int. J. Obes.* **27**: S49–S52.
- Shoulders M.D. & Raines R.T. 2009. COLLAGEN STRUCTURE AND STABILITY. *Annu. Rev. Biochem.* **78**: 929–958.
- Simonds S.E., Pryor J.T., Ravussin E., Greenway F.L., Dileone R., Allen A.M., Bassi J., Elmquist J.K., Keogh J.M., Henning E., Myers Jr. M.G., Licinio J., Brown R.D., Enriori P.J., O’Rahilly S., Sternson S.M., Grove K.L., Spanswick D.C., Farooqi I.S. & Cowley M.A. 2014. Leptin Mediates the Increase in Blood Pressure Associated with Obesity. *Cell.* **159**: 1404–1416.
- Simone G. de, Devereux R.B., Chinali M., Roman M.J., Lee E.T., Resnick H.E. & Howard B.V. 2009. Metabolic syndrome and left ventricular hypertrophy in the prediction of cardiovascular events: The Strong Heart Study. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **19**: 98–104.
- Slart R.H.J.A., Bax J.J., de Jong R.M., de Boer J., Lamb H.J., Mook P.H., Willemsen A.T.M., Vaalburg W., van Veldhuisen D.J. & Jager P.L. 2004. Comparison of gated PET with MRI for evaluation of left ventricular function in patients with coronary artery disease. *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **45**: 176–182.
- Sloboda N. Facteurs environnementaux et génétiques pouvant influencer l’apparition de la rigidité artérielle, étude du rat Zucker et de la souris Klotho. Thèse de doctorat : Sciences de la Vie et de la Santé. Université de Lorraine, 2011. Disponible à l’adresse : http://docnum.univ-lorraine.fr/public/SCD_T_2011_0108_SLOBODA.pdf
- Solinas G., Vilcu C., Neels J.G., Bandyopadhyay G.K., Luo J.-L., Naugler W., Grivennikov S., Wynshaw-Boris A., Scadeng M., Olefsky J.M. & Karin M. 2007. JNK1 in hematopoietically derived cells contributes to diet-induced inflammation and insulin resistance without affecting obesity. *Cell Metab.* **6**: 386–397.

- Speakman J., Hambly C., Mitchell S. & Król E. 2007. Animal models of obesity. *Obes. Rev.* **8**: 55–61.
- Stevens A. & Lowe J. 1997. *Histologie humaine*. De Boeck Supérieur, 422 pp.
- Stevens G.A., Singh G.M., Lu Y., Danaei G., Lin J.K., Finucane M.M., Bahalim A.N., McIntire R.K., Gutierrez H.R., Cowan M. & others 2012. National, regional, and global trends in adult overweight and obesity prevalences. *Popul. Health Metr.* **10**: 1.
- Strait J.B. & Lakatta E.G. 2012. Aging-associated cardiovascular changes and their relationship to heart failure. *Heart Fail. Clin.* **8**: 143–164.
- Sutton-Tyrrell K., Newman A., Simonsick E.M., Havlik R., Pahor M., Lakatta E., Spurgeon H. & Vaitkevicius P. 2001. Aortic Stiffness Is Associated With Visceral Adiposity in Older Adults Enrolled in the Study of Health, Aging, and Body Composition. *Hypertension.* **38**: 429–433.
- Symonds M.E. 2013. Brown Adipose Tissue Growth and Development. *Scientifica.* **2013**: 1–14.
- Toto-Moukoko J.J., Achimastos A., Asmar R.G., Hugues C.J. & Safar M.E. 1986. Pulse wave velocity in patients with obesity and hypertension. *Am. Heart J.* **112**: 136–140.
- Tulipano G. 2004. Characterization of the resistance to the anorectic and endocrine effects of leptin in obesity-prone and obesity-resistant rats fed a high-fat diet. *J. Endocrinol.* **183**: 289–298.
- Ungvari Z., Kaley G., de Cabo R., Sonntag W.E. & Csiszar A. 2010. Mechanisms of Vascular Aging: New Perspectives. *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.* **65A**: 1028–1041.
- Vasan R.S., Sullivan L.M., Roubenoff R., Dinarello C.A., Harris T., Benjamin E.J., Sawyer D.B., Levy D., Wilson P.W.F., D'Agostino R.B. & Framingham Heart Study 2003. Inflammatory markers and risk of heart failure in elderly subjects without prior myocardial infarction: the Framingham Heart Study. *Circulation.* **107**: 1486–1491.
- van der Veen D.R., Shao J., Chapman S., Leevy W.M. & Duffield G.E. 2012. A Diurnal Rhythm in Glucose Uptake in Brown Adipose Tissue Revealed by In Vivo PET-FDG Imaging. *Obesity.* **20**: 1527–1529.
- Vijgen G.H.E.J., Bouvy N.D., Teule G.J.J., Brans B., Schrauwen P. & van Marken Lichtenbelt W.D. 2011. Brown Adipose Tissue in Morbidly Obese Subjects. *PLoS ONE.* **6**: e17247.
- Visse R. 2003. Matrix Metalloproteinases and Tissue Inhibitors of Metalloproteinases: Structure, Function, and Biochemistry. *Circ. Res.* **92**: 827–839.
- Walker R.G., Poggioli T., Katsimpardi L., Buchanan S.M., Oh J., Wattrus S., Heidecker B., Fong Y.W., Rubin L.L., Ganz P., Thompson T.B., Wagers A.J. & Lee R.T. 2016.

- Biochemistry and Biology of GDF11 and Myostatin Similarities, Differences, and Questions for Future Investigation. *Circ. Res.* **118**: 1125–1142.
- Wang C.-Y. & Liao J.K. 2012. A Mouse Model of Diet-Induced Obesity and Insulin Resistance. pp. 421–433. In: Weichhart T. (eds), *mTOR*, Humana Press, Totowa, NJ.
- Weisberg S.P., McCann D., Desai M., Rosenbaum M., Leibel R.L. & Ferrante A.W. 2003. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J. Clin. Invest.* **112**: 1796–1808.
- Weisbrod R.M., Shiang T., Al Sayah L., Fry J.L., Bajpai S., Reinhart-King C.A., Lob H.E., Santhanam L., Mitchell G. & Cohen R.A. 2013. Arterial Stiffening Precedes Systolic Hypertension in Diet-Induced Obesity. *Hypertension.* **62**: 1105–1110.
- Wu C., Cheng W., Sun Y., Dang Y., Gong F., Zhu H., Li N., Li F. & Zhu Z. 2014a. Activating Brown Adipose Tissue for Weight Loss and Lowering of Blood Glucose Levels: A MicroPET Study Using Obese and Diabetic Model Mice. *PLoS ONE.* **9**: e113742.
- Wu C.-Y., Chou Y.-C., Huang N., Chou Y.-J., Hu H.-Y. & Li C.-P. 2014b. Association of Body Mass Index with All-Cause and Cardiovascular Disease Mortality in the Elderly. *PLoS ONE.* **9**: e102589.
- Yang E.Y., Chambless L., Sharrett A.R., Virani S.S., Liu X., Tang Z., Boerwinkle E., Ballantyne C.M. & Nambi V. 2012. Carotid arterial wall characteristics are associated with incident ischemic stroke but not coronary heart disease in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Stroke J. Cereb. Circ.* **43**: 103–108.
- Yao R., Lecomte R. & Crawford E.S. 2012. Small-Animal PET: What Is It, and Why Do We Need It?. *J. Nucl. Med. Technol.* **40**: 157–165.
- Zhao S., Wu H., Xia W., Chen X., Zhu S., Zhang S., Shao Y., Ma W., Yang D. & Zhang J. 2014. Periostin expression is upregulated and associated with myocardial fibrosis in human failing hearts. *J. Cardiol.* **63**: 373–378.
- Zhao X., Ho D., Gao S., Hong C., Vatner D.E. & Vatner S.F. 2011. Arterial Pressure Monitoring in Mice. *Curr. Protoc. Mouse Biol.* **1**: 105–122.
- Zhou Y., Jiang Z., Harris E.C., Reeves J., Chen X. & Pazdro R. 2016. Circulating Concentrations of Growth Differentiation Factor 11 Are Heritable and Correlate With Life Span. *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.* glv308.
- Zibadi S., Cordova F., Slack E.H., Watson R.R. & Larson D.F. 2011. Leptin's regulation of obesity-induced cardiac extracellular matrix remodeling. *Cardiovasc. Toxicol.* **11**: 325.
- Roche. Obepi-Roche 2012 : enquête nationale sur l'obésité et le surpoids [en ligne]. Disponible à l'adresse : <http://www.roche.fr/innovation-recherche-medicale/decouverte-scientifique-medicale/cardio-metabolisme/enquete-nationale-obepi-2012.html>

RESUME

Du fait de leur prévalence grandissante mondiale, l'obésité et le surpoids ont été décrits comme une pandémie. L'obésité et le vieillissement vont conduire à des complications cardiovasculaires. De plus, il a été montré que l'obésité favoriserait un vieillissement cardiaque prématuré chez les adultes jeunes et augmenterait les complications cardiaques telle l'insuffisance cardiaque.

Ainsi, l'étude des effets à long terme d'un régime riche en graisses, débuté dès le plus jeune âge, sur des paramètres métaboliques et sur les fonctions et morphologie cardiaques nous permettrait de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents du vieillissement cardiaque accéléré et d'envisager des actions préventives.

Nous avons démontré, dans un modèle murin vieillissant, qu'un régime riche en graisses conduit à des troubles métaboliques (hyperglycémie, hypercholestérolémie, hyperleptinémie) associés à des altérations au niveau cardiaque, malgré l'absence de modifications de la pression artérielle et de la fréquence cardiaque. Le vieillissement, chez les souris obèses, va conduire à une hypertrophie excentrique du ventricule gauche, accompagnée par une altération de la fonction systolique. La leptine qui est augmentée chez les souris obèses est impliquée dans cette hypertrophie. Le régime riche en graisses débuté précocement conduit également à une augmentation de la masse grasse et à une détérioration du métabolisme au niveau du tissu adipeux blanc. L'étude de l'expression des gènes au niveau tissulaire cardiaque, nous a permis de mettre en évidence un effet du vieillissement et du régime précoce sur l'augmentation de l'expression des gènes de fibrose confirmant ainsi le phénotype hypertrophique retrouvé lors des examens échocardiographiques.

Le vieillissement associé à un régime riche en graisses précoce conduit également à une up-régulation de GDF11 au niveau tissulaire cardiaque, à l'opposé des souris ayant suivi un régime normal. GDF11 peut alors être considéré comme un marqueur de vieillissement cardiaque accéléré. Par extension, chez l'Homme, GDF11 serait donc un biomarqueur de vieillissement accéléré chez l'obèse et par la même un marqueur de fragilité et d'exposition aux maladies cardiovasculaires. Ces résultats peuvent suggérer des voies thérapeutiques ou préventives, où l'inhibition de GDF11 améliorerait le pronostic et la survie cardiovasculaire des sujets obèses. L'étude de ce modèle nous a ainsi permis de mettre en évidence qu'un régime riche en graisses conduit à un vieillissement accéléré au niveau du métabolisme et au niveau cardiaque.

Mots clés : vieillissement, métabolisme, obésité, tomographie par émission de positons, hypertrophie cardiaque, GDF11.

ABSTRACT

Due to their increasing prevalence in many countries around the world, obesity and being overweight have been described as a global pandemic. Both obesity and aging will lead to cardiovascular complications. In addition, it has been highlighted that obesity promotes premature cardiac aging in young adults and increased cardiac complications such as heart failure. Thus, the study of the long term effects of a high fat diet on metabolic and cardiac parameters may allow us to better understand the underlying mechanisms of accelerated heart aging.

We have demonstrated, in an aging mouse model, that an early high fat diet leads to metabolic disorders (hyperglycemia, hypercholesterolemia and hyperleptinemia) associated with alterations in cardiac morphology and function, despite an absence of changes in blood pressure and heart rate. Ageing leads to eccentric ventricular hypertrophy accompanied by impaired systolic function only in mice given a high fat diet. Leptin that is increased in obese mice is involved in this hypertrophy. The early high fat diet leads also to an increase in fat mass and deterioration in metabolism of white adipose tissue. The study of gene expression in cardiac tissue allowed us to demonstrate an effect of aging and early diet on the increased expression of fibrosis genes confirming the hypertrophic phenotype found during echocardiographic examination.

Aging associated with an early high fat diet led also to an up-regulation of GDF11 at the level of cardiac tissue, in contrast to mice fed a normal diet. GDF11 may then be considered as a marker of accelerated cardiac aging. By extension, in humans, GDF11 could be an accelerated aging biomarker in obese, and also a marker of vulnerability and exposure to cardiovascular disease. These results may suggest therapeutic or preventive pathways, where inhibition of GDF11 improves prognosis and survival in obese subjects with cardiovascular disease.

The study of this model has allowed us to demonstrate that a high fat diet leads to accelerated aging in metabolic parameters and at the level of the heart.

Key words: aging, metabolism, obesity, positron emission tomography, cardiac hypertrophy, GDF11.